UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNÉE 1977 — THÈSE N° 4

# EXPLORATION BIOCHIMIQUE DES STÉATORRHÉES : ÉTUDE ANALYTIQUE

QUESTION PROPOSÉE PAR LA FACULTÉ :

**Mise au point sur les hypolipidémiants**

## THÈSE POUR LE DOCTORAT D'ÉTAT EN PHARMACIE

*présentée et soutenue publiquement le 25 mai 1977*

PAR

**Georges COVI**

PHARMACIEN

DIPLÔMÉ D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE CHIMIE THÉRAPEUTIQUE

DIPLÔMÉ D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE PATHOLOGIE MÉDICALE

DIPLÔMÉ D'ÉTUDES SPÉCIALES DE PARASITOLOGIE PHARMACEUTIQUE ET TECHNIQUE

ATTACHÉ DE FACULTÉ — ASSISTANT DE SCIENCES FONDAMENTALES

né le 20 mai 1945 à Porto-Novo (Dahomey)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :

| | |
|---|---|
| MM. R. JENSEN ..... | PRÉSIDENT |
| J.-J. DUBARRY ..... | JUGES |
| G. DEVAUX ..... | JUGES |
| R. MERLAND ..... | MEMBRE INVITÉ |

— 1977 —

**UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II**

UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

**ANNÉE 1977 — THÈSE N° 4**

# EXPLORATION BIOCHIMIQUE DES STÉATORRHÉES : ÉTUDE ANALYTIQUE

QUESTION PROPOSÉE PAR LA FACULTÉ :

**Mise au point sur les hypolipidémiants**

## THÈSE POUR LE DOCTORAT D'ÉTAT EN PHARMACIE

*présentée et soutenue publiquement le 25 mai 1977*

PAR

**Georges COVI**

PHARMACIEN

DIPLÔMÉ D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE CHIMIE THÉRAPEUTIQUE

DIPLÔMÉ D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE PATHOLOGIE MÉDICALE

DIPLÔMÉ D'ÉTUDES SPÉCIALES DE PARASITOLOGIE PHARMACEUTIQUE ET TECHNIQUE

ATTACHÉ DE FACULTÉ — ASSISTANT DE SCIENCES FONDAMENTALES

né le 20 mai 1945 à Porto-Novo (Dahomey)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :

| | |
|---|---|
| MM. R. JENSEN ..... | PRÉSIDENT |
| J.-J. DUBARRY ..... | JUGES |
| G. DEVAUX ..... | JUGES |
| R. MERLAND ..... | MEMBRE INVITÉ |

— 1977 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A LA MEMOIRE

DE

MA GRAND-MERE

MON GRAND-PERE

MA SOEUR

MON FRERE

MON COUSIN GEORGES

A MA GRAND-MERE

Avec toute mon affection.

A MA MERE

Par son infinie bonté, son inégalable dévouement, son inépuisable patience, elle a su créer autour de moi une atmosphère de sécurité, d'amour et de paix.

Qu'elle trouve, ici un modeste témoignage de ma profonde tendresse.

A MON PERE

Il représente pour moi la sagesse, le travail et la réussite. Puisse son exemple ne jamais me faire défaut.

Qu'il reçoive, ici, l'expression de ma trés grande affection.

A MA FEMME

Dont l'apaisante douceur et l'inébranlable sérénité m'ont donné le courage de mener à bien ce travail.

En témoignage de mon indéfectible amour.

A MA FILLE

Afin qu'elle puisse porter à son père l'admiration que j'ai toujours vouée au mien.

En témoignage de mon infinie tendresse.

A MES TANTES

A MES ONCLES

A MA FAMILLE

A MA BELLE-FAMILLE

A MA MARRAINE

A MON PARRAIN

A TOUS MES AMIS

A notre Maître de stage

---

Monsieur G. VEAUX

*Pharmacien.*
*Lauréat de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Paris.*
*Ancien interne des hôpitaux de Rennes.*
*Licencié ès Sciences.*
*Chevalier de la Légion d'Honneur.*
*Croix de guerre 39-45.*
*Médaille de la Résistance.*
*Médaille des combattants volontaires.*
*Médaille pénitenciaire.*

Vous avez employé tout votre art à nous inculquer les rudiments, puis les subtilités de notre profession.

Vous nous avez donné la chaleur de votre amitié, nous éclairant de vos judicieux conseils, tout au long de nos études.

Nous gardons de vous le souvenir d'un Maître aux exceptionnelles qualités de coeur.

Permettez-nous de vous exprimer notre respectueux attachement.

A nos juges

Monsieur le Professeur J.J. DUBARRY

*Professeur d'Hydro-Climatologie thérapeutique et de Clinique des Maladies de l'Appareil Digestif.*
*Médecin des Hôpitaux, Chef de Service à l'Hôpital Saint-André.*
*Membre correspondant de l'Académie Nationale de Médecine.*
*Chevalier de la Légion d'Honneur.*
*Officier des Palmes Académiques.*
*Officier du Mérite Social.*
*Cavalière Ufficiale nell Ordine al Merito della Reppublica Italiana.*
*Commandeur de l'Ordre du Mérite Civil Espagnol.*

Nous avons été trés sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu porter à notre travail qui n'aurait pu être réalisé sans l'aide de vos services.

Vous nous faites le grand honneur d'accepter de juger cette thèse, permettez-nous de vous exprimer toute notre reconnaissance et de vous assurer de notre respectueux dévouement.

Monsieur le Professeur G. DEVEAUX

*Professeur de Pharmacie chimique.*
*Licencié ès Sciences.*

Nous avons été votre élève et avons pu apprécier au cours de nos études la clarté et la qualité de votre enseignement.

Vous avez bien voulu nous faire l'honneur de siéger parmi nos juges. Cette thèse est pour nous l'occasion de vous assurer de notre profonde admiration et de vous exprimer nos plus sincères remerciements.

*Monsieur R. MERLAND*

*Chargé d'enseignement.*
*Assistant de Biologie des Hôpitaux.*
*Docteur en Pharmacie (Etat).*
*Licencié ès Sciences.*
*Chevalier de la Légion d'Honneur.*
*Croix de Guerre 1939-1945.*
*Officier dans l'Ordre des Palmes Académiques.*
*Médaillé d'Honneur des Epidémies.*

Vous nous avez accordé votre aide précieuse et prodigué vos judicieux conseils, chaque fois que nous en avons eu besoin.

Vous avez bien voulu accepter de siéger à notre jury de thèse.

Nous vous en exprimons notre reconnaissance et notre profonde gratitude.

A notre Président de thèse

---

*Monsieur le Professeur R. JENSEN*

*Professeur de Chimie Biologique.*
*Biologiste des Hôpitaux, Chef de Service à l'hôpital Saint-André.*
*Docteur en Pharmacie (Etat).*
*Docteur ès Sciences (Etat).*
*Chevalier des Palmes Académiques.*

Vous nous avez accueilli avec une extrême bienveillance dans votre laboratoire. Très vite, vous avez su nous communiquer votre goût pour la recherche. Vous nous avez, alors, donné le sujet de cette thèse.

La confiance dont vous avez bien voulu nous honorer et l'intérêt que vous n'avez cessé de manifester pour notre travail ont contribué largement à son élaboration.

Vous nous faites, aujourd'hui, le grand honneur de présider notre jury de thèse.

Permettez-nous de vous exprimer notre profonde reconnaissance et notre respectueux attachement.

# INTRODUCTION

De tous temps, les sociétés humaines ont adopté, vis-à-vis des matières fécales, des comportements contradictoires. Nous illustrerons ce fait par la version suivante de l'*Arche de Noë*, tirée des traditions orales des populations nomades de l'Afrique de l'Ouest :

"En ces temps très anciens, les savants s'appelaient des prophètes et leurs théories se nommaient prophéties.

Un roi prophète, instruit par l'étude des astres, pressentit qu'une fantastique inondation recouvrirait la terre entière et conçut l'idée d'un bateau gigantesque aux dimensions d'une ville. Il mit cent ans à réaliser son projet et cent autres années à attendre l'évènement.
Le siècle d'attente lassa les sujets mécréants qui, désertant le bateau géant, le transformèrent en latrines publiques, souillant ainsi cette oeuvre d'inspiration divine qui ne fut plus bientôt qu'un amas d'immondices. Alors survint une épidémie de dermatose. Les malades, saisis d'insupportables démangeaisons, se grattaient tout le corps avec rage, entraînant sous leurs ongles de grands lambeaux de peau et le mal fut nommé : "*CLOU MON HOU*" (gratte-moi jusqu'à l'os).
L'un deux, alors qu'il se grattait en déposant, tomba dans la masse de matières fécales et se noya. Repêché et ranimé, il retourna chez lui et, à quelques temps de là, guérit de ses lésions. Le bruit s'en étant répandu, tous les malades vinrent se baigner dans la fange savaltrice et emportèrent chez eux de ce nouveau remède, nettoyant, ainsi, le bateau de toutes ses souillures.

Alors seulement apparut le déluge où périrent noyés les sujets mécréants. Seuls furent sauvés les pêcheurs repentis, le peuple des "*craignant Dieu*" que dans sa grande bonté le Tout-Puissant permis que l'Arche abrita".

Dans cette légende d'Afrique, aux accents très bibliques, les selles sont, tour à tour, des souillures, assimilables aux péchés humains, puis une thérapeutique, voire même une épreuve rédemptrice.

Cela illustre bien l'ambigüité des sentiments humains vis-à-vis d'un produit qui fut souvent, sans appel, l'objet de rejets, voire même d'anathèmes religieux. Ceux-ci ne sont, peut-être, à l'origine que des réactions de défense de minorités vaincues, contre des pratiques en vigueur chez des envahisseurs aux moeurs considérées comme "barbares".
Il semble, en effet, que les populations musulmanes du Moyen-Orient traitaient déjà un certain nombre de maladies de peau, grâce à des onguents à base de substances organiques soufrées dont l'odeur et l'aspect physique évoquaient assez bien des matières fécales comme la classique pommade de HELMERICH.
Or, chez les populations voisines, d'obédience hébraïque, la purgation (éthymologiquement : purgare : purifier) avait essentiellement pour but de purifier un organisme malade de ses souillures internes considérées comme foncièrement néfastes. Le seul fait d'utiliser ces souillures (ou des substances voisines), dans un but thérapeutique, ne pouvait être considéré que comme un contre-sens, justifiant des interdits religieux aptes à protéger des populations, d'autant plus vulnérables que ces thérapeutiques étaient considérées comme efficaces.

Au fil des siècles, la force de ces interdits finit par s'émousser, les vertus fécondantes du fumier, animal ou humain, ayant largement contribué à la réhabilitation d'un produit, dont Flaubert parlait en des termes d'un lyrisme inattendu :

"Il s'élabore dans les latrines une chimie merveilleuse, il s'y fait des décompositions fécondantes. Qui sait à quels sucs d'excréments nous devons le parfum des roses et la saveur des melons ?".

Les matières fécales étant une résultante de l'alimentation et de l'assimilation digestive, leur intérêt diagnostic est rapidement apparu.

C'est ainsi que, déjà, pour Hippocrate :

"Les selles les meilleures sont les molles et consistantes, qui se font à l'heure habituelle et qui sont en proportion des substances ingérées ; car les évacuations d'une nature semblable prouvent que le ventre inférieur est en bon état". Pour le même auteur : "Les selles fréquentes et rendant peu à la fois, un peu jaunes, visqueuses, ayant une petite quantité de matières fécales avec douleur de l'hypocondre et du côté annoncent l'ictère (74)".

Il faudra, cependant, attendre le XXè siècle pour que ce matériau diagnostic, d'un prélèvement pourtant facile, suscite, chez les chercheurs, médecins ou biologistes, une réelle curiosité scientifique.

Les premières recherches systématiques pour utiliser la coprologie en clinique sont dues à NOTHNAGEL, SCHMIDT et STRASSBURGER (129). En France, les pionniers sont R. GAULTIER (54) qui a principalement étudié la séméiologie fécale du carrefour duodénal et R. GOIFFON (58) qui a codifié la méthode d'exploration en l'interprétant en fonction de la vitesse du transit.

La coprologie fonctionnelle devenait alors un instrument diagnostic que la technologie moderne allait s'efforcer de rendre de plus en plus précis.

Actuellement, la panoplie de l'analyse coprologique fonctionnelle comporte des examens de complexité très variable, allant de l'étude microscopique type GOIFFON, à l'utilisation d'isotopes radioactifs employés comme traceurs.

L'étude du degré d'assimilation des lipides alimentaires étant, comme nous le verrons, un des meilleurs témoins de la fonction digestive, nous nous sommes fixé pour objectif l'analyse des lipides fécaux.

Notre travail a consisté à imaginer des protocoles permettant d'adapter, à ce type d'examen, des techniques d'analyse, relativement simples mais surtout plus modernes et plus fines que celles de la coprochimie clinique classique.

Notre recherche a été guidée par deux impératifs : d'une part, essayer de remédier aux inconvénients des méthodes déjà existantes ; d'autre part, trouver un protocole permettant de doser sur le même échantillon l'eau et l'ensemble des fractions lipidiques, paramètres cardinaux de l'analyse des matières fécales.

Le plan d'étude adopté pour ce travail sera le suivant :

- une première partie sera consacrée à une mise au point sur les connaissances actuelles concernant la biochimie de la digestion et de l'absorption des lipides. Nous étudierons l'incidence de ces impératifs métaboliques sur la composition des lipides fécaux chez des populations normales et pathologiques ;
- une deuxième partie sera consacrée aux méthodes analytiques d'extraction et de dosage mises au point par nous :
  - + extraction de l'eau et des lipides par distillation azéotropique ou action combinée d'un mélange solvants et d'ondes ultra-sons ; dosage de l'eau par volumétrie dans un appareil de DEAN et STARK ; dosage de l'eau par ampérométrie dans un appareil de KARL FISCHER ;
  - + dosage des différentes fractions lipidiques constituées de phospholipides, monoglycérides, diglycérides, triglycérides, cholestérol libre, cholestérol estérifié et acides gras libres par chromatographie en couche mince ;
  - + dosage des différentes fractions d'acides gras de $C_{12}$ à $C_{18}$, saturés et insaturés, par chromatographie en phase gazeuse.

Nous terminerons par l'étude de quelques cas cliniques qui nous fourniront des éléments de discussion.

Ce travail n'a été possible que grâce à des concours précieux ; c'est pourquoi nous tenons à exprimer nos remerciements les plus vifs à tous ceux qui, par leurs compétences et leurs connaissances, nous ont permis de mener à bien cette thèse.

Nous remercions tout particulièrement Monsieur le Professeur JENSEN à qui nous devons le sujet de cette thèse. Malgré ses lourdes fonctions hospitalo-universitaires, il ne nous a ménagé ni son temps, ni ses conseils. Sa grande connaissance des problèmes théoriques de biologie clinique jointe à une longue expérience pratique, nous ont permis d'affronter avec succès les difficultés que la biochimie analytique réserve aux débutants.

Qu'il trouve, ici, un témoignage de notre profonde gratitude et de notre respectueux attachement.

Nous remercions également Monsieur le Professeur BAILANGER, qui nous initia aux techniques de coprologie fonctionnelle, pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à notre travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à Monsieur le Docteur MERLAND qui, malgré ses multiples activités, a bien voulu nous faire bénéficier de son expérience et de sa très grande érudition.

Nous ne saurions oublier toute l'équipe du laboratoire de biochimie analytique, ni celle du service de chimie de l'hôpital Saint-André qui ont participé à l'élaboration de ce travail.

Nous tenons à remercier, tout particulièrement, Mademoiselle QUATTROCCHI pour la précieuse aide technique qu'elle nous a apportée ; Mademoiselle ESCOLIER et Monsieur LABORDE pour leur aimable collaboration iconographique ; Mesdemoiselles DUBUCQ et SEGUY, qui, avec beaucoup de gentillesse, de patience et de bonne humeur ont assuré la dactylographie de cette thèse.

° ° °

# PREMIERE PARTIE

## LES LIPIDES

*"Felix qui potuit regnum cognoscere causas.*
*Heureux celui qui a pu pénétrer les causes secrètes des choses."*

Virgile : Georgiques, II, 489.

# PREMIERE PARTIE

## LES LIPIDES

"Felix qui potuit rerum cognoscere causas.
Heureux celui qui a pu pénétrer les causes
secrètes des choses."

Virgile : Georgiques, II, 489.

# CHAPITRE I

## BIOCHIMIE

La digestion des lipides alimentaire est un phénomène physiologique complexe grâce auquel ces substances, non hydrosolubles, sont transformées en molécules suffisamment simples pour pouvoir traverser la paroi du tube digestif.

Ce processus fait intervenir des organes dont l'action mécanique, les sécrétions et la capacité d'absorption favorisent les différents stades de l'assimilation.

Dans ce chapître, nous étudierons successivement :

- les sécrétions digestives et leur importance dans la digestion et l'absorption des lipides ;
- la digestion des lipides ;
- l'absorption des lipides ;
- le devenir des lipides absorbés : l'incidence sur leur absorption intestinale.

## SECTION I : *Les sécrétions digestives : leur rôle dans la digestion et l'absorption des lipides.*

Les sécrétions digestives ont un rôle fondamental. Grâce à elles, les aliments ingérés peuvent subir les transformations physico-chimiques indispensables à leur absorption intestinale.
Les plus importantes sont les sécrétions *gastrique, biliaire* et *pancréatique*.

### § I - LA SECRETION GASTRIQUE

Elle représente un milieu aqueux complexe constitué de nombreux éléments dont les principaux sont l'acide chlorhydrique, les ferments protéolytiques, les mucus et le facteur intrinsèque. Le contrôle de cette sécrétion est à la fois nerveux, hormonal et physico-chimique.

Le rôle de la sécrétion gastrique dans la digestion des lipides est mineur. En fait, c'est l'estomac tout entier qui intervient par les quatre mécanismes suivants (124) :

- *Séparation* des triglycérides et des phospholipides des protéines par protéolyse partielle ;
- *Emulsion* des graisses alimentaires en fines gouttelettes par suite des mouvements gastriques avec le concours stabilisant des phospholipides ;
- *Hydrolyse* des triglycérides grâce à la lipase gastrique. En fait, elle joue peut-être un rôle chez l'enfant dans l'hydrolyse des triglycérides du lait, mais n'intervient probablement pas de manière significative chez l'adulte dans la digestion normale des graisses ;
- *Régulation* antropylorique et duodénale de l'admission des graisses dans l'intestin, par l'intermédiaire de récepteurs lipidosensibles.
  Ces récepteurs sont activés par des esters d'acides gras, avec une efficacité qui est en relation avec la longueur des chaînes. Elle est maximale pour les esters porteurs d'acides gras, de chaînes comprises entre 12 et 18 atomes de carbone. Les récepteurs excités ralentissent la vidange gastrique (7).

## § II - LA SECRETION BILIAIRE

La bile est la sécrétion exocrine des hépatocytes. Durant les périodes interdigestives, elle est stockée dans la vésicule biliaire.

La bile est un mélange de sels biliaires, de cholestérol et de lécithine. Elle contient aussi, à des concentrations moindres, des pigments biliaires, des stéroïdes hormonaux, de la vitamine $B_{12}$ et de l'acide folique. Le contrôle de sa sécrétion est surtout nerveux et hormonal, mais aussi chimique (7).

Les sels biliaires présentent, pour nous, un intérêt particulier. Ils sont synthétisés par le foie à partir du cholestérol. Les principaux sont les acides *cholique* et *chenodesoxycholique* conjugués avec, soit de la taurine, soit du glycocolle et solubilisés dans la bile sous forme de sels sodiques.

La flore microbienne colique déconjugue les sels biliaires en acide cholique. Ce dernier est deshydroxylé pour former successivement les acides *désoxycholique* et *chénodesoxycholique* (di-hydroxylés), puis l'acide *lithocholique* (monohydroxylé), ainsi que d'autres dérivés de moindre importance.

A jeun, le pool des sels biliaires est, dans la vésicule, de 3 à 4 mg chez l'adulte (7). En période digestive, il est excrété dans la lumière intestinale où la majeure partie est réabsorbée au niveau de l'intestin terminal selon un véritable *cycle entéro-hépatique* se produisant huit à dix fois par 24 heures et où interviennent le *foie* et les *voies biliaires*, le *duodenum*, l'*intestin grêle*, le *côlon*, la *voie portale* et le *canal thoracique*.

Environ 97 % des sels biliaires déversés dans l'intestin y sont ainsi réabsorbés, tandis que la fraction minime qui échappe à cette réabsorption se retrouve dans les selles. Cette réabsorption intéresse surtout l'acide désoxycholique qui sera de nouveau excrété dans la bile après avoir été conjugué. Par contre, l'acide lithocholique est pratiquement éliminé en totalité dans les selles (134). Le foie, s'il fonctionne normalement, veille à garder constant le "pool" des sels biliaires en synthétisant une quantité équivalente aux pertes fécales.

Les sels biliaires augmentent l'efficacité lipolytique de la lipase pancréatique en émulsionnant les triglycérides (11). Les produits de la lipolyse pancréatique (acides gras à longue chaîne et monoglycérides) demeurent insolubles dans l'eau jusqu'à la formation de *micelles*, agrégats moléculaires dans lesquels les sels biliaires maintiennent, en solution, les lipides hydrolysés (78).
Les micelles permettent aux lipides d'entrer en contact avec l'épithélium du jejunum où l'absorption prend place. Ainsi, une diminution de la synthèse ou de la sécrétion de sels biliaires, leur dilution excessive dans la lumière intestinale, une modification de solubilité par un pH trop acide, une flore microbienne anormale sont autant de facteurs pouvant perturber gravement l'absorption des lipides.

## § III - LA SECRETION PANCREATIQUE EXOCRINE

Dans le cadre de la digestion des lipides, les composés les plus intéressants de cette sécrétion sont les enzymes lipolytiques. La *glycérol ester hydrolase* ou *lipase pancréatique* est de loin la plus importante. Les autres enzymes lipolytiques : *estérase non spécifique, cholestérol estérase, polyesterhydrolase, phospholipases A et B* jouent un rôle assez négligeable. Ils constituent surtout des enzymes de remplacement.

Nous étudierons plus particulièrement la *glycérol ester hydrolase*. C'est un enzyme de poids moléculaire compris entre 35.000 et 42.000 (32). Il apparaît, en filtration sur gel, plus ou moins combiné avec la carboxyl estérase, sous forme d'agrégats, d'un poids moléculaire de plusieurs millions, englobant des acides gras libres.
Ces complexes facilement dissociés par les sels biliaires, n'ont, contrairement à l'enzyme seul, pas d'importance physiologique (41).

La lipase pancréatique agit à un pH optimum compris entre 6 et 8 en présence de sels biliaires. A ce pH, elle résiste à la trypsine, alors qu'à pH 3 elle est inactivée en quelques minutes et de manière irréversible (56). Elle est très peu active en l'absence d'un coenzyme thermostable, la *colipase*, d'un poids moléculaire d'environ 10.000 (116-128), qui n'a pas d'affinité pour elle tant que des micelles ou des particules lipidiques ne sont pas présentes dans le système (116). La colipase empêche l'inhibition de la lipase par les sels biliaires à forte concentration.

La lipase pancréatique est de toutes les estérases, celle qui joue le plus grand rôle dans la digestion et l'absorption des lipides ; les esters du glycérol subissant, sous son action, une hydrolyse progressive et partielle. Or, ceux-ci représentent la plus grande partie des lipides soumis aux processus de la digestion.

En raison de sa grande solubilité dans l'eau, la lipase pancréatique se répartit entre la phase aqueuse et les particules en émulsion et n'atteint son activité maximale que lorsque son adsorption est complète.

Ceci explique :
- qu'elle soit sans action sur les substrats en solution et qu'elle n'agisse qu'en milieu hétérogène ;
- que son activité soit à la fois proportionnelle à la concentration du substrat et à l'aire d'interface ;
- que tous les facteurs qui augmentent ou renouvellent l'interface ($Ca^{2+}$ et sels biliaires à faible concentration) soient des activateurs de la lipase (32) ;
- que certains esters du glycérol (tripalmitine, tristéarine) qui sont sous forme de suspension cristalline à la température du corps, subissent une hydrolyse extrêmement lente du fait de la surface réduite offerte à la lipase (84).

## § IV - ROLE DES HORMONES GASTRO-DUODENALES DANS LE CONTROLE DES SECRETIONS DIGESTIVES

Les hormones gastro-duodénales qui interviennent dans le contrôle des sécrétions digestives sont au nombre de trois : *la gastrine, la secrétine et la cholécystokinine-pancréozynine* (7).

La *gastrine* ou *hormone antrale*, à destinée gastrique, est sécrétée par des cellules spéciales de la *muqueuse antropylorique* à la faveur de stimulations locales et nerveuses.

La *secrétine* et la *cholécystokinine-pancréozynine*, hormones à destinée biliaire et pancréatique sont libérées par la *muqueuse duodénale* à la suite du contact du chyme acide avec cette dernière.

Les sécrétions qui résultent de ces stimulations hormonales contiennent les principaux enzymes de la digestion et, par leur constitution électrolytique, établissent un pH adéquat.

## I - LA GASTRINE

Le rôle physiologique de la gastrine porte essentiellement sur la *stimulation de la sécrétion d'acide chlorhydrique* par l'estomac.
C'est le plus puissant stimulus de cette sécrétion et on a pu montrer qu'il existait une relation étroite entre la dose ingérée et la réponse.

On peut noter aussi une action sur la sécrétion de pepsine, sur le tonus et la motricité gastro-intestinale.
Cette hormone possède, en outre, la propriété de sensibiliser les cellules fundiques aux autres stimuli.

## II - LA SECRETINE

L'action physiologique essentielle de cette hormone est la *stimulation de la sécrétion de l'ion* $HCo_3^-$ *par le pancréas exocrine*. Le flux sécrétoire hydro-carbonaté s'accompagne d'un pic précoce et passager d'excrétion enzymatique. On admet que la colonne liquide obtenue en réponse à sécrétine a poussé devant elle un suc préformé, contenu dans les canaux pancréatiques et riches en enzymes (phénomène de "WASHING OUT").

On reconnaît, aussi à la sécrétine, une activité sur la motricité rythmique duodénale. On a pu observer également que des doses très élevées de sécrétine augmentaient la sécrétion hydrique et la sécrétion alcaline biliaire.
A l'état physiologique, ce mécanisme semble peu important.

## III - LA CHOLECYSTOKININE-PANCREOZYMINE

On sait maintenant que contrairement à l'hypothèse d'IVY (1939), pancréozymine et cholécystokinine sont une seule et même substance à double polarité.
L'action physiologique de cette hormone s'exerce essentiellement sur la *sécrétion enzymatique du pancréas* et la *motricité vésiculaire* ; accessoirement, sur la sécrétion gastrique.

° ° °

## SECTION II : *Digestion des lipides.*

Les lipides soumis aux processus de la digestion se répartissent en deux catégories : les *lipides endogènes* et les *lipides exogènes*.

- Les lipides endogènes proviennent des sécrétions digestives et, principalement, de la bile qui en contient deux à trois grammes sous forme de lipoprotéines, de cholestérol estérifié et d'acides gras libres (*acides oléique, palmitique et linoléique*).
  Il faut y ajouter des lipides libérés dans la lumière intestinale par la desquamation des entérocytes villositaires et les synthèses bactériennes. En effet, l'utilisation de graisses marquées par $C_{13}$ a montré que, lors de stéatorrhées de plusieurs dizaines de grammes par jour, les *lipides non alimentaires* n'atteignent pas trois grammes par 24 heures (6). Ils sont quantitativement négligeables.

- Les lipides exogènes proviennent de l'alimentation ; ce sont de loin les plus importants quantitativement.
  Ils contiennent essentiellement des triglycérides mais sont également constitués, en quantités plus réduites, de phospholipides et de cholestérol.

La quasi totalité des lipides soumis aux processus de la digestion est donc constituée de *triglycérides*.

Aussi, notre étude portera-t-elle surtout sur cette fraction lipidique dont la digestion comporte deux aspects :

- une transformation chimique : l'*hydrolyse* ;
- une transformation physique : la *micelle*.

Ce sont ces deux aspects que nous aborderons successivement dans cette section.

### § I - TRANSFORMATION CHIMIQUE DES LIPIDES : L'HYDROLYSE

L'hydrolyse des lipides comporte trois caractères importants : elle est *progressive, partielle* et *spécifique*.

- Elle est *progressive* : elle se fait par étapes, les chaînes d'acides gras étant arrachées successivement et avec une difficulté croissante.
  Les diglycérides sont formés facilement, les monoglycérides, plus difficilement et le dernier acide gras est arraché avec une extrême difficulté (124).
  Tous ces stades sont réversibles sauf le dernier : c'est ce qui ressort d'une étude réalisée sur un mélange *triglycéride-lipase pancréatique* de rat et d'acides gras marqués (166) ;
- Elle est *partielle* : d'après WILSON (166), 100 parties de triglycérides libèrent 75 parties de glycérol et 25 parties de monoglycérides.
- Elle est *spécifique* : c'est le caractère le plus important de l'hydrolyse, car il permet de donner une explication à la sélectivité de l'absorption des lipides, phénomène fondamental en physiologie mais surtout en pathologie digestive.

## I - INFLUENCE SUR L'HYDROLYSE DE LA POSITION DES ACIDES GRAS DANS LE GLYCERIDE

Il est admis que la lipase pancréatique a une spécificité structurale absolue pour les liaisons esters des alcools primaires : position 1 et 3 de la molécule de glycérol (39). L'hydrolyse aboutit donc à la production de diglycérides (1-2) et (2-3) puis de monoglycérides-2 et à la libération d'acides gras libres (107).
Les monoglycérides-2 s'isomérisent partiellement (20 à 30 %) en monoglycérides-1 au pH alcalin de l'intestin, des traces de diglycérides (1-3) (2 à 5 %) se forment aussi spontanément à partir des diglycérides (1-2) et (1-3) (39-113).

Nous avons représenté, sur le schéma n° 1, le mécanisme de cette réaction d'hydrolyse.

*SCHEMA N° 1*
*REACTION D'HYDROLYSE CATALYSEE PAR LA GLYCEROL ESTER HYDROLASE*

(1) $CH_2$–OH
(2) CH –OOCR'
(3) $CH_2$–OOCR''

*Diglycéride (2-3)*

(1) $CH_2$–OOCR
(2) CH –OOCR'
(3) CH –OOCR''

*Triglycéride*

*Acides gras libres*

(1) $CH_2$–OH
(2) CH –OOCR'
(3) $CH_2$–OH

*Monoglycéride-2*

(1) $CH_2$–$OOCR_1$
(2) CH –$OOCR_2$
(3) $CH_2$–OH

*Diglycéride (1-2)*

Cette isomérisation des positions internes aux positions externes diminue quand les monoglycérides-2 sont dispersés dans les micelles de sels biliaires (78). En outre, elle est d'autant plus facile que les acides gras sont plus courts. Cela explique que les triglycérides à chaîne moyenne et à chaîne courte puissent être complétement hydrolysés en acides gras libres et glycérol (38).
C'est aussi la raison pour laquelle l'acide butyrique situé en position 2 dans les glycérides synthétiques (2-butyrate°, 1,3-dipalmitate°), est libéré si les temps d'hydrolyse sont très prolongés (23) alors que la spécificité positionnelle de la lipase est conservée dans des conditions expérimentales différentes (48).

° *R = butyrate ; R' = R'' = palmitate*

Ces monoglycérides-1 dont la solubilité dans la phase aqueuse est plus faible que celle des monoglycérides-2 (80), sont hydrolysés en majeure partie à l'interface par la glycérol ester hydrolase. Ils peuvent aussi, après leur solubilisation, être hydrolysés par un enzyme pancréatique dont la spécificité chimique est très large, puisqu'hydrolysant toute une variété d'esters, constitués d'alcools divers (cholestérol compris) (41-127) et d'acides gras à longues et courtes chaînes. Cet enzyme requiert seulement que son substrat soit en solution (41-115-127). Il possède à la fois les propriétés d'une *carboxyl ester hydrolase* (E C 3.1.1.1.) et de la *cholestérol ester hydrolase* (E C 3.1.1.13). Il a un poids moléculaire de 300.000 chez l'homme et de 65.000 chez le rat. Son exigence, vis-à-vis des sels biliaires, n'est due qu'au fait que ceux-ci sont indispensables à la dispersion du substrat (41-127).

## *II - INFLUENCE SUR L'HYDROLYSE DE LA TAILLE DES ACIDES GRAS CONSTITUANT LE GLYCERIDE*

### A - Cas des acides gras à longues chaînes :

#### 1°) In vitro :

La *glycérol ester hydrolase* n'a pas de spécificité chimique *in vitro* pour les esters d'acides gras si ces derniers ont plus de douze atomes de carbone et cela quel que soit leur degré d'insaturation (32-92) ou la configuration spatiale de leurs isomères (90).
L'hydrolyse préférentielle de l'acide oléïque par rapport à celle de l'acide stéarique à partir du 1-oléate 2,3-distéarate observée dans certaines conditions expérimentales (110) ne contredit pas ce fait. En effet, la libération plus facile de l'acide oléïque peut être due à ce que l'hydrolyse est d'autant plus rapide que les acides gras constituant l'ester ont un point de fusion plus bas. C'est le cas du diglycéride 1,3-distéarate qui a un point de fusion plus élevé que celui du diglycéride 1-oléate 2-stéarate.

#### 2°) In vivo :

Cette absence de spécificité chimique pour les acides gras à longues chaînes a été confirmée *in vivo* avec un mélange d'huiles naturelles interestérifiées (92).
La composition des triglycérides résiduels est, en effet, identique à celle des triglycérides originaux, à l'exception de l'acide laurique.

Dans ce cas, la disparition plus rapide de cet acide gras n'implique pas que la lipase ait, pour lui, une spécificité plus grande, mais l'acide laurique étant absorbé plus rapidement, l'interface se renouvelle plus vite.

B - Cas des acides gras à chaînes courtes :

La question de la spécificité de la lipase pancréatique pour les acides gras à chaînes courtes est plus discutée.

Les expériences d'ENTRESSANGLES et coll. (37) ont montré, en effet :

- que la tributyrine est hydrolysée plus vite que la trioléine, même si la difficulté d'obtenir des émulsions similaires rendent hasardeuse l'interprétation des expériences avec des glycérides simples (32-91) ;
- qu'il existe très peu de différence dans la vitesse d'hydrolyse des acides gras de $C_4$ à $C_{10}$ à partir de glycérides interestérifiés. Cependant, dans ce cas, l'acide butyrique est libéré plus vite que l'acide oléïque et que l'acide palmitique à partir d'un diglycéride 1-palmitate 3-butyrate.

En revanche, JENSEN R.G. et coll. (91-92) ont, sur la question, une opinion différente.
Leurs travaux ont été réalisés avec des glycérides mixtes asymétriques dans lesquels des acides gras différents occupent des positions équivalentes : glycérol 1-palmitate 2,3-dibutyrate ; 1,2-dipalmitate 3-butyrate et 1-myristate 2,3-dioléate.
Ils ont montré que les chaînes externes sont libérées à la même vitesse et ont conclu qu'il n'existe pas de spécificité intramoléculaire.
Ainsi, selon ces auteurs, il n'y aurait pas de différence dans la vitesse à laquelle une liaison ester primaire est clivée par rapport à l'autre.
Ces mêmes auteurs ont montré, au contraire, que dans un mélange de glycérol 1-palmitate 2,3-dibutyrate ; 1,2-dipalmitate 3-butyrate et de 1-myristate 2,3-dioléate, le premier triglycéride est hydrolysé plus vite que le second.
L'hydrolyse préférentielle des triglycérides qui contiennent des acides gras courts n'a pas été observée par FREEMAN et coll. (48).

Ces auteurs travaillaient sur la composition des laits de vache, de bufle, de chèvre, de brebis et de femme. Ces travaux sont confirmés par ceux de BRECHENRIDGE (15), au cours de leur étude du lait maternel (étude portant sur les acides gras de $C_{10}$ à $C_{14}$).

Il faut noter également que les triglycérides comportant deux chaînes d'acide butyrique sur la même molécule de glycérol n'existent qu'à l'état de traces dans le lait (93). Donc, ce qui est vrai avec un glycéride synthétique, comme le 1-palmitate 2,3-dibutyrate ; 1,2-dipalmitate 3-butyrate ne l'est peut-être pas pour un glycéride naturel ayant seulement une molécule d'acide butyrique en position 3.

### *III - INFLUENCE SUR L'HYDROLYSE DU DEGRE DE SATURATION DES ACIDES GRAS CONSTITUANT LE GLYCERIDE*

Pour WILSON (170), l'hydrolyse est préférentielle au niveau des acides gras non saturés. C'est aussi ce qui semble ressortir des travaux de WISEMAN (168).
CLEMENT (22), au contraire, trouve une affinité de la lipase pour les triglycérides dont les acides gras sont les plus saturés. Cependant, des expériences ultérieures lui font conclure que la saturation n'a aucun rôle et que les résultats précédents étaient simplement dus au fait que les graisses utilisées portaient des acides gras saturés en position 1 et 3.

## § II - TRANSFORMATION DE L'ETAT PHYSIQUE DES LIPIDES : LA MICELLE

De très nombreuses théories ont été proposées pour rendre compte de ce problème. Celle qui est actuellement la plus largement admise est la conception micellaire proposée par BORGSTRØM et son école (9).

### *I - CAS DES MONOGLYCERIDES-2*

Les monoglycérides-2 qui sont, avec les acides gras, les produits finaux de l'hydrolyse des triglycérides à longue chaîne, appartiennent, avec la plupart des constituants des membranes et notamment les lécithines, au groupe des *"SWELLING"* (154).

Bien qu'ils soient comme les triglycérides et les diglycérides, virtuellement insolubles dans l'eau, ils sont néanmoins capables de réagir avec elle et de former toute une variété de phases "*cristallines liquides*" auxquelles on donne souvent le nom de *figures myéliniques* (82).
Cela implique qu'ils sont capables d'établir plus facilement des liaisons de leurs groupes polaires (les deux fonctions alcools primaires libres) avec l'eau, qu'entre eux.
Cela implique aussi que les parties hydrophobes de leurs molécules peuvent s'associer étroitement, par force de VAN DER WAALS, en conservant leur état liquide. La température critique au-dessus de laquelle la chaîne aliphatique des monoglycérides est partiellement liquide, dépend de sa longueur, de son degré de saturation et de ramification et des substitutions éventuelles (32-78).

Cette propriété des monoglycérides de réaliser spontanément avec l'eau des phases *lamellaires* ou *hélicoïdales transitoires* rend compte sans aucun doute de la facilité avec laquelle ils se combinent ensuite avec les sels biliaires et sont facilement arrachés de l'interface (32-78).
Les sels biliaires possèdent, en effet, un groupement polaire et une partie non polaire suffisamment importante. Ils ont ainsi la propriété de s'accumuler à l'interface eau-lipides. Dans ce cas, leur groupement non polaire est dans l'huile et leur groupement polaire dans l'eau, d'où leur rôle dans la stabilisation des émulsions (9).
Mais, lorsque la concentration de ces substances dépasse un certain niveau (*concentration micellaire critique*) (76), elles s'associent en petits agrégats moléculaires, appelés micelles. Ces dernières sont grossièrement sphériques, d'environ 40 microns de diamètre. Elles ont les groupes polaires orientés vers la surface et leurs chaînes paraffiniques vers l'intérieur. Il est possible de solubiliser à l'intérieur de telles micelles des solutions non polaires. Ce réarrangement moléculaire s'effectue presque instantanément, en un temps inférieur à 1 milliseconde dans des conditions d'agitation suffisante (77), au-dessus, bien sûr de la concentration micellaire critique de sels biliaires.
Notons qu'à 37°C, la concentration micellaire critique d'un mélange physiologique de sels biliaires conjugués est de l'ordre de 1 à 2 µM/ml (82). Elle est donc très inférieure aux concentrations normalement trouvées dans la bile (50 à 150 µM/ml) et le contenu intestinal (5 à 10 µM/ml) (75).

La dispersion dans la micelle est maximum pour les monoglycérides insaturés qui sont, du fait de la constitution des graisses, les monoglycérides-2 les plus fréquemment rencontrés au cours de la digestion.
En ce qui concerne les monoglycérides saturés, cette dispersion est d'autant plus importante que leur point de fusion est plus bas et donc que leur chaîne est plus courte (80).
La 2-mono-palmitine, qui est le monoglycéride saturé le plus long résultant de l'hydrolyse des graisses naturelles puisque, nous l'avons vu, l'acide stéarique s'y trouve à peu près toujours en position 1, a toutefois encore une très grande solubilité dans les micelles de sels biliaires (80).
Il est probable, en outre, que la température micellaire critique d'un mélange de monoglycérides, est très inférieure à celle de chacun des monoglycérides pris isolément et que les monoglycérides saturés ou non se comportent en pratique comme les monoglycérides insaturés (76).

La solubilisation des monoglycérides n'est donc pas le facteur limitant de l'absorption des graisses.

## *II - CAS DES ACIDES GRAS LIBRES*

Le problème de la solubilisation des acides gras libres est plus complexe, leur comportement dans la phase aqueuse étant différent suivant qu'ils sont porteurs, ou non, de charges électriques et suivant la longueur de leur chaîne et leur degré d'insaturation.

Les acides gras non chargés se comportent, en effet, comme les triglycérides et les diglycérides : leur solubilité est négligeable (82) et ils restent concentrés dans la phase huileuse (81-139).
Les acides gras chargés ont, eux, un coefficient de partage d'autant plus en faveur de la phase micellaire que leur température micellaire critique est plus basse et donc qu'ils sont plus courts ou plus insaturés (11).
L'acide palmitique et l'acide stéarique dont les points de fusion sont très élevés se comportent, dans ces conditions, comme des lipides non polaires typiques (49). Ils peuvent seulement être solubilisés, comme le cholestérol et de manière compétitive l'un avec l'autre (43-135), à l'intérieur des micelles mixtes de sels biliaires et de monoglycérides. Leur solubilisation est d'autant plus grande que les micelles sont plus agrandies (42-80).

Les acides oléique, linoléique, l'acide laurique et à un degré moindre, l'acide myristique, dans les conditions physiologiques, présentent des caractéristiques de solubilité à peu près identiques à celles des monoglycérides (82). Comme eux, ils augmentent alors la solubilisation des lipides moins polaires (70-80-135). Ils n'ont pas, cependant, les mêmes possibilités d'interaction avec les sels biliaires et sont d'environ deux fois moins solubles qu'eux dans la phase micellaire (11-14).

La neutralisation des acides gras par les bicarbonates pancréatiques augmente leur coefficient de partage en faveur de la phase micellaire (11-76). Un défaut de bicarbonate, soit absolu (pancréatite), soit relatif (syndrome de Zollinger-Ellison), diminue donc la solubilisation des acides gras, entraîne leur accumulation à l'interface eau-lipides entravant, ainsi, l'action de la lipase pancréatique.

A noter que les acides gras courts ($< C_{10}$) ont une solubilité dans l'eau au moins égale à leur solubilité dans l'huile. De ce fait, ils n'ont pas besoin des sels biliaires pour se disperser dans la phase aqueuse (80).
Au contraire, la solubilité dans l'eau des acides gras plus longs, reste extrêmement basse (82), même s'ils sont porteurs d'un maximum de charges.

Tout comme les glycérides, les autres lipides subissent une série de transformations physico-chimiques, préalables à leur absorption. Les estérases pancréatiques hydrolysent leurs fractions estérifiées et les sels biliaires constituent avec les acides gras libres qui en résultent, des micelles qui favoriseront leur absorption.

## SECTION III : *Absorption des lipides.*

### § I - SIEGE DE L'ABSORPTION

Pour les trois variétés de lipides, l'absorption a lieu dans l'intestin grêle, plus précisément dans le duodénum, dès l'abouchement des canaux biliaires et pancréatiques et dans le jéjunum proximal (premier tiers intestinal). C'est ce qui ressort d'études faites au moyen de trioléine et d'huile d'olive marquées à l'iode 131 et dont les résultats sont concordants chez le rat et chez l'homme (124). Ces travaux sont confirmés par ceux de BORGSTRØM et coll. (9) par une technique de tubage, chez l'homme, utilisant un marqueur non absorbé (le *polyéthylèneglycol*).
Cependant, quelques observations (11-12-67) montrent la prépondérance du rôle de l'iléon dans l'absorption des graisses neutres. Notons que les autres substances alimentaires (acides aminés, acides nucléiques, sels minéraux, électrolytes, sels biliaires, vitamines, sucres, eau) sont, pour leur plus grande partie, absorbés au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle.

#### *I - SURFACE D'ABSORPTION : LA MUQUEUSE*

L'intestin grêle mesure environ 3 m et son diamètre est de 4 cm, ce qui correspondrait, si on l'assimile à un cylindre, à une surface d'absorption de 3770 $cm^2$.
Cette surface est, en réalité, 600 fois plus grande grâce à la juxtaposition de structures de plus en plus fines :

- *Les valvules conniventes de Kerckring*, facilement accessibles à la vue, sont des replis permanents de la muqueuse ;
- *Les villosités intestinales* qui tapissent les valvules conniventes, sont hautes de 0,2 à 1 mm conférant un aspect velouté à la muqueuse. Elles sont à la limite de la visibilité directe et seront examinées de façon satisfaisante à la loupe binoculaire. Ces fines digitations constituent l'unité fonctionnelle de la muqueuse ;
- *Les cryptes intestinales de Galeazzi et Lieberkhün* apparaissent au microscope, comme des replis de la muqueuse invaginés dans le chorion entre les villosités ;

- *Les microvillosités* sont individualisées au microscope électronique. Elles sont à la surface de cellules de l'épithélium villositaire. Ce sont de fines digitations hautes de 1 à 3 microns, au nombre d'un millier, environ, par cellule. Elles sont responsables de l'aspect de bordure en brosse bien décrite en microscopie électronique. Elles augmentent considérablement la surface de la muqueuse qui atteint, à ce niveau, 200 à 300 $m^2$ pour l'ensemble de l'intestin. Les échanges entre le milieu extérieur et la cellule intestinale, se font à travers une *membrane* qui joue un rôle essentiel dans les phénomènes d'absorption.

## II - L'UNITE FONCTIONNELLE : LA VILLOSITE

La véritable unité fonctionnelle est la villosité intestinale dont la forme et la longueur sont variables selon la portion d'intestin grêle considérée. C'est dans les dernières portions du duodénum et dans le jéjunum proximal que les villosités sont les plus grandes ; ensuite, elles diminuent de taille progressivement et sont très courtes dans l'iléon.

Les structures essentielles en sont : l'axe centro-villositaire et l'épithélium de recouvrement.

### A - L'axe centrovillositaire :

Il est étayé par un support conjonctif incluant :

- *des fibres musculaires lisses*. Elles permettent à la villosité intestinale d'être animée de mouvements moteurs dont le rôle est important : d'une part, dans le brassage du chyle intestinal et l'absorption des nutriments, d'autre part, dans le cheminement des substances absorbées, le long des vaisseaux capillaires et surtout des lymphatiques intra-villositaires.
- *des éléments cellulaires* : lymphocytes, éosinophiles, fibroblastes, plasmocytes et cellules endothéliales.
- *le lymphatique centrovillositaire et des éléments vasculaires*. Le système lymphatique est drainé par le canal thoracique et le système veineux, par la circulation porte vers le foie.

B - L'épithélium de recouvrement :

Cet épithélium est constitué de hautes cellules palissadiques, les entérocytes, auxquelles se substituent, de place en place, des cellules à mucus caliciforme.

Les entérocytes sont les cellules fonctionnelles assurant l'absorption intestinale.

## III - LA CELLULE FONCTIONNELLE : L'ENTEROCYTE

L'entérocyte est une haute cellule, entièrement entourée d'une membrane continue sans pores ni ouvertures. Elle contient un noyau basal, une série d'organelles intracytoplasmiques : mitochondries, réticulum endoplasmique, appareil de GOLGI et ribosomes ; le tout témoignant de la possibilité d'une intense activité métabolique. La demi-vie de l'entérocyte est considérable, 1,5 à 3 jours, son activité mitotique est considérable.

L'apex cellulaire est hérissé d'une bordure striée (bordure en brosse) faite de *microvillosités*, parallèles entre elles et perpendiculaires à la surface cellulaire. Les microvillosités, très nombreuses, semblent jouer un rôle capital dans les phénomènes d'absorption, en augmentant la surface de contact et en assurant la réalisation des processus enzymatiques ultimes, nécessaires à l'absorption de certains nutriments.

Les microvillosités comportent une membrane limitante, prolongeant la membrane cellulaire, de structure hétérogène.

## IV - LA SURFACE D'ECHANGE : LA MEMBRANE

La membrane plasmatique du pôle apical des cellules intestinales, joue un rôle essentiel dans les phénomènes d'absorption, d'autant plus qu'elle ne s'interrompt pas entre les cellules.

Les propriétés de cette membrane sont celles d'une *membrane lipoïde*. Elle se laisse traverser facilement par les substances dont la solubilité dans les solvants des lipides est élevée, en revanche, elle nécessite des conditions particulières (transporteur, énergie) pour le passage de l'eau, des électrolytes et des petites molécules organiques hydrosolubles.

Les échanges à travers ce type de membrane peuvent faire intervenir essentiellement trois sortes de mécanismes différents : *la diffusion passive, l'absorption particulaire par pinocytose et l'absorption active.*

A - La diffusion passive :

C'est la théorie de FRAZER (47). Le mécanisme envisagé est assez élémentaire. Il implique l'existence d'un gradient de concentration dans le sens lumière intestinale, muqueuse intestinale.
L'importance du passage est directement proportionnelle à la concentration du produit dans la lumière intestinale.
Ce processus ne consomme aucune énergie, mais suppose que l'une ou l'autre des deux conditions suivantes soit remplie :

- la présence dans la membrane de pores suffisamment petits pour n'être pas visibles au microscope électronique et pleins d'eau, permettant ainsi la diffusion des substances hydrosolubles ;
- la solubilité puis, la diffusion à travers la membrane apicale lipidique des cellules, des substances liposolubles.

B - L'absorption particulaire par pinocytose :

Cette théorie résulte du travail de microscopie électronique de PALAY et KARLIN (). Les observations de ces auteurs semblent indiquer qu'une certaine quantité de graisses puisse être absorbée sous forme particulaire par pinocytose (*microphagocytose*). Ces observations morphologiques ne rendent pas compte de l'importance quantitative de cette voie d'absorption.

C - L'absorption active :

Ce mécanisme s'applique surtout à l'absorption de l'eau, des électrolytes et des petites molécules organiques. Il est caractérisé par sa rapidité, son sens unique, la possibilité d'une absorption contre un gradient osmotique, la stéréospécificité étroite pour certaines molécules et surtout la dépense d'énergie aux dépens de la cellule.

Deux étapes doivent être distinguées :

- le passage de la substance, rendu possible, à travers la membrane, grâce à la combinaison réversible avec un *transporteur enzymatique stéréospécifique*. Dans ce cas, une modification si minime soit-elle de la molécule suffit à empêcher l'absorption.
- la concentration de cette substance dans la cellule contre un gradient chimique ou électrique pour les substances électriquement chargées.

Cette deuxième étape exige de la cellule une forte dépense d'énergie fournie, sous forme d'ATP, par une série de réactions métaboliques complexes à l'intérieur du cytoplasme cellulaire. La mise en jeu de ces réactions demande un transfert des ions $Na^+$ au pôle apical de la cellule puis leur excrétion. Le transfert actif et la réaction enzymatique dépendent donc d'une véritable *"pompe à sodium"*.

## § II - MECANISME DE L'ABSORPTION

### *I - CAS DES GLYCERIDES ET DES ACIDES GRAS*

Actuellement, il semble acquis que les lipides soient absorbés sous *forme moléculaire* et *non particulaire* et que, seuls les monoglycérides-2 et les acides gras libres soient capables de passer la barrière intestinale (5-46-153).

Le transfert des acides gras libres et des monoglycérides-2 de la phase micellaire à l'intérieur de la cellule intestinale s'effectue semble-t-il en deux étapes distinctes.

La première étape est la diffusion des structures micellaires (diamètre 50 Å environ) à travers les couches aqueuses non agitées (*"Unstired water layers"*). Ces couches existent au contact des microvillosités comme de part et d'autre de n'importe quelle membrane biologique immergée dans une solution. Elles s'étendent concentriquement à partir de l'interface lipide-eau de la membrane (33). Elles favorisent le tansfert des acides gras saturés à chaîne courte.

La seconde étape est l'absorption proprement dite. Elle implique, dans un premier temps, la fixation réversible des divers éléments constitutifs de la micelle sur des récepteurs superficiels spécifiques, situés dans le glycocalyx et à la partie externe de la membrane elle-même (121-122-134). Le deuxième temps est la diffusion de ces éléments à l'état de *monomères* (5-146-153) par un mécanisme énergétiquement indépendant (83-95-96-158). La vitesse de cette diffusion est en rapport étroit avec la solubilité de chaque monomère dans la couche lipidique de la membrane (53). Du fait de la structure, non polaire de celle-ci, elle se fait sous une forme non "ionisée" (83) et favorise le transfert des lipides les moins polaires par rapport aux plus polaires (12).

La vitesse de diffusion augmente, ainsi, de façon linéaire pour les acides gras chaque fois qu'il y a addition d'un groupement méthyl et chaque fois qu'il y a soustraction d'un groupement hydroxyle (170).
Cependant, cette augmentation de la vitesse de diffusion en fonction du nombre de $CH_2$ ne s'observe que pour les acides gras courts (53-166), la limite étant l'acide laurique (24-51-140). En revanche, elle ne s'observe pas pour les acides gras ayant plus de 12 carbones en solution micellaire (50-51).

La diffusion à travers les "*couches aqueuses non agitées*" constitue donc le facteur limitant du transfert des acides gras à longues chaînes et détermine, en fait, la vitesse de toute cette séquence métabolique (32-108) ; le rôle des micelles étant, en définitive, de maintenir une concentration suffisante de monomères au contact des microvillosités (146).

## *II - CAS DU CHOLESTEROL ET DES PHOSPHOLIPIDES*

### A - Cas du cholestérol

Les fractions estérifiées du cholestérol sont transformées en micelles sous l'influence des sels biliaires puis, après hydrolyse, passent dans la cellule selon un processus encore mal précisé, nécessitant vraisemblablement de l'énergie (7).
L'absorption du cholestérol alimentaire est limitée, elle ne peut se faire en l'absence d'acides biliaires (52). Elle ne peut excéder 2 g/24 h (124). Notons que le régime alimentaire normal en comprend de 0,5 à 5 g/24 h.
L'absorption du cholestérol alimentaire est particulièrement lente, puisque 3 heures après ingestion de cholestérol $C_{14}$, on en retrouve 90 % dans l'intestin et qu'il faut 12 heures pour que 50 % de la quantité ingérée soient absorbés (124).

### B - Cas des phospholipides

La fraction de phospholipides ayant échappé à l'hydrolyse intraluminale semble absorbée telle quelle et participe ensuite à la formation des chylomicrons qui suivent ensuite leur sort (124).

° ° °

## SECTION IV : *Devenir des lipides absorbés : incidence sur leur absorption intestinale.*

### § I - RESYNTHESE DES LIPIDES

#### *I - CAS DES GLYCERIDES*

##### A - Mécanisme général

Dès leur entrée dans la cellule, les acides gras et les monoglycérides-2 peuvent être retransformés en triglycérides par deux voies différentes :

- la première comporte la formation d'un nouveau squelette glycéridique à partir du 1-3-glycérophosphate ;
- la seconde, l'utilisation directe des monoglycérides absorbés (87).

Dans ces deux cas, les acides gras doivent être, au préalable, activés en présence d'ATP et d'ions $Mg^{++}$ par une thiokinase localisée dans le réticulum, l'*acyl-coA-synthétase ou AG-coA ligase* (EC 6.2.1.3.) pour former des dérivés thiols-acylés (C.A.-thiols esters). Ceux-ci sont non seulement plus réactifs chimiquement que les acides gras (liaison riche en énergie) mais sont aussi beaucoup plus solubles qu'eux dans l'eau, du fait des nombreux groupes polaires du radical-coA (148).
Notons que cette resynthèse n'est obligatoire et ne s'applique que pour les acides gras à longues chaines, l'acyl-coA synthétase n'ayant pratiquement pas d'activité sur les acides gras qui ont moins de 12 carbones (1-29).
Ces derniers ont la possibilité de passer sous forme libre (liée à l'albumine) dans les capillaires porte (86). Là, le flux sanguin est environ 600 à 1200 fois supérieur à celui du flux lymphatique (166). Cela explique qu'ils soient absorbés plus vite que les acides gras à longues chaînes (68). Cela explique aussi que leur concentration intracellulaire ne soit jamais le facteur limitant de leur absorption (8).

##### B - Voie principale de la resynthèse

L'estérification des monoglycérides en diglycérides et des diglycérides en triglycérides est la voie principale (10

Elle s'effectue sous l'action de deux enzymes (EC classes 2, 3, 1) :

- 1'acyl-coA : *monoglycéride acyl transférase* ;
- 1'acyl-coA : *diglycéride acyl transférase* ;

qui sont localisés eux aussi, dans le réticulum endoplasmique (2-17-145) et dont JOHNSTON et coll., ont suggéré qu'ils pouvaient faire partie, avec 1'acyl-coA synthétase, d'un complexe multienzymatique unique (95).

C - Voie secondaire de la resynthèse

La resynthèse des triglycérides à partir du 3-1-glycérophosphate semble moins importante.
Le 3-1-glycérophosphate peut dériver du métabolisme glucidique ou à degré moindre, de la phosphorylation du glycérol libre. Il est d'abord estérifié par 1'acyl-coA : 1-glycérol-3-phosphate transférase (EC 2, 3, 1, 15) en acide phosphatidique. Celui-ci est ensuite déphosphorylé par la 1-α-phosphatidate phosphatase (EC 3, 1, 3, 4), les diglycérides formés étant engagés dans la voie principale (148).

D - Prépondérance de l'une ou l'autre voie

Si la première voie est la plus importante, la prépondérance de l'une ou de l'autre, dépend de la concentration relative des acides gras et des monoglycérides-2, à l'intérieur des cellules intestinales.
S'il y a un excès d'acides gras par rapport aux monoglycérides, ils sont estérifiés par la voie du (1)-3-glycérophosphate.
S'il y a un excès de monoglycérides, ceux-ci sont hydrolysés par une lipase intracellulaire (149) pour fournir davantage d'acides gras et permettre une synthèse plus rapide par la voie directe (88).

E - Vitesse des réactions

La vitesse de ces réactions est strictement limitée (111) et le fait que dans certaines conditions, les acides gras libres s'accumulent dans la muqueuse suggère que la formation des dérivés thiol-acylés (étape d'activation) est le facteur limitant de l'absorption des acides gras à longues chaînes (96).

Bien que des différences notables entre les espèces étudiées (chat, hamster, cobaye, porc) aient été rapportées (18-51-55-97) et qu'il soit difficile actuellement de tirer des conclusions définitives sur ce point, l'ensemble de ces résultats montre là encore que l'acide palmitique (quand il est en position externe) et l'acide stéarique soient plus mal absorbés que les autres. Cela explique aussi que ce soit essentiellement eux que l'on retrouve dans les selles ou dans les cellules desquamées (43-51-138).

*II - CAS DES AUTRES LIPIDES*

Dans l'entérocyte, la plus grande partie du cholestérol (environ les 2/3) est réestérifiée à l'aide d'acides gras présents, selon un mécanisme mal connu ; puis, il participe à la formation des chylomicrons et quitte la cellule vers les lymphatiques intestinaux. Il en est de même pour les phospholipides, resynthétisés à partir du 1-α-glycérophosphate et de l'acyl COA.

## § II - FORMATION DES CHYLOMICRONS

Les chylomicrons se forment par adjonction à des triglycérides, de phospholipides, de protéines et sans doute de cholestérol, libre ou estérifié.
Tous ces éléments sont synthétisés également dans la cellule intestinale elle-même (99).

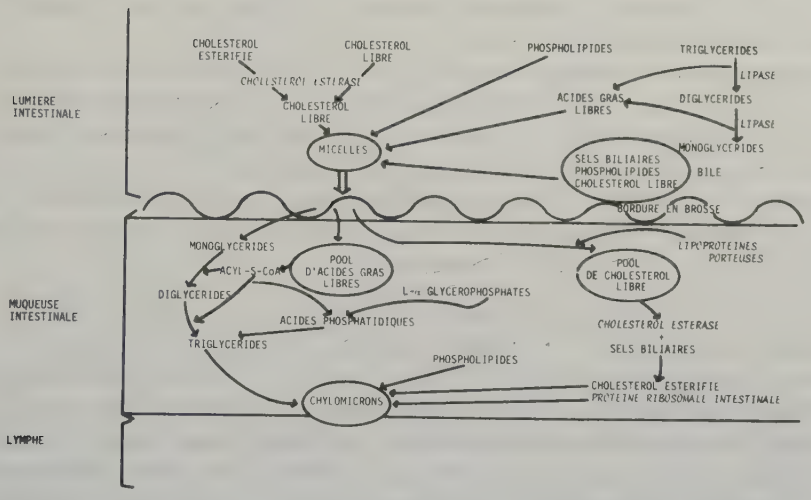
Les phospholipides sont des lécithines (phosphatidylcholines) qui proviennent du (L)-3-glycérophosphate par incorporation de phosphoryl-choline sur les diglycérides, l'intermédiaire étant la cytidine-diphosphate-choline (148).

Les protéines avaient été considérées primitivement comme des α-lipoprotéines ; leur parenté avec les β-lipoprotéines a été semble-t-il démontrée (107).
C'est l'assemblage de ces phospholipides et de ces protéines qui évite la coalescence des particules de triglycérides (1.500 à 2.000 Å). Il permet leur migration, à partir du réticulum endoplasmique en passant par l'appareil de GOLGI, vers les espaces intercellulaires et, de là, dans la lymphe (12).
En cas de blocage de leur formation (absence de β-lipoprotéines, trouble idiopathique du transport des graisses ou inhibition par la puromycine de la synthèse intestinale des protéines) une partie des acides gras à longues chaînes peut, néanmoins être absorbée par la veine porte (100-137).

Nous avons représenté, sur le schéma suivant, les différents étapes de la digestion des lipides.

SCHEMA N° 2

DIFFERENTES ETAPES DE LA DIGESTION DES LIPIDES




Ce schéma met en valeur les points clés de l'assimilation des lipides :

- fractionnement et solubilisation dans la lumière intestinale ;
- passage de la bordure en brosse ;
- formation des chylomicrons au niveau de la muqueuse ;
- passage de ces chylomicrons dans la lymphe.

° ° °

## EN RESUME

Les triglycérides constituent la quasi-totalité des lipides soumis aux processus de l'assimilation digestive. Celle-ci est pratiquement complète lorsque des quantités raisonnables sont ingérées, c'est-à-dire moins de 150 grs par jour, la vitesse à laquelle ces lipides sont digérés et absorbés étant fonction de leur structure et de leur composition en acides gras.

L'assimilation digestive des triglycérides débute au niveau de l'estomac par une *émulsion*, éjectée par fractions dans le duodénum.
Là, un mélange est réalisé avec la bile puis le suc pancréatique : les gouttelettes de l'émulsion sont attaquées par la glycérol ester hydrolase (lipase pancréatique), cette opération étant facilitée par les sels biliaires.
Les positions 1 et 3 du triglycéride sont hydrolysées en priorité et cela d'autant plus vite, semble-t-il que l'acide gras est plus court ou plus insaturé.

Cette hydrolyse donne naissance, essentiellement, à des monoglycérides-2 et à des acides gras libres. Les monoglycérides-2 se combinent, avec des sels biliaires conjugués, pour donner, avec les acides gras libres et le concours stabilisant des phospholipides, des agrégats macromoléculaires : les *micelles*. Ces micelles se constituent de préférence avec les acides gras courts ou insaturés et les monoglycérides qui en sont porteurs. Elles permettent la solubilisation des lipides peu polaires : acides gras saturés à longue chaîne et glycérides qui en sont porteurs. Elles permettent, en outre, l'attaque de ces derniers par la lipase pancréatique.

L'hydrolyse des triglycérides est progressive et rarement totale si bien qu'il n'est produit, dans la lumière intestinale, qu'une faible quantité de glycérol libre.
Les acides gras courts, relativement hydrosolubles, peuvent rapidement diffuser à travers les couches aqueuses non agitées. Ils sont ensuite fixés, réversiblement, sur des récepteurs superficiels, spécifiques, situés dans le glycocalyx et à la partie externe de la membrane, puis diffusent à l'état de monomères par un mécanisme énergétiquement indépendant. Ils passent ensuite dans le sang veineux mésentérique, sans activation ni incorporation dans les triglycérides. Leur transport est alors assuré par l'albumine sérique.

Les acides gras à longue chaîne et les monoglycérides-2 passent la barrière intestinale de la même manière que les acides gras à chaîne courte.
Ils passent ensuite dans les voies lymphatiques, sous forme de chylomicrons, mélanges de triglycérides, de phospholipides, de protéines et sans doute de cholestérol libre ou estérifié. Ils doivent donc, contrairement aux acides gras courts, être obligatoirement resynthétisés en triglycérides, de l'autre côté de la membrane microvillositaire, ce qui nécessite la présence d'A.T.P., de $Mg^{2+}$ et d'acyl-coA synthétase.

Les autres lipides soumis aux processus de l'assimilation digestive sont le cholestérol libre et estérifié et les phospholipides. Le cholestérol libre et le cholestérol estérifié atteignent, en même temps, le grêle, où la cholestérol-estérase pancréatique hydrolyse tous les esters de ce lipide. L'absorption du cholestérol libre se fait, comme pour les acides gras, après formation de micelles où il est solubilisé en compétition avec les acides gras à longue chaîne. Le cholestérol absorbé est réestérifié de l'autre côté de la membrane microvillositaire et passe dans la lymphe sous forme de chylomicrons.

La capacité d'absorption de l'intestin pour le cholestérol est de 2 g soit 500 fois moins que pour l'ensemble des produits de dégradation des triglycérides.
Cela explique que, chez le sujet normal, cette fraction lipidique puisse se retrouver en quantité relativement importante dans les selles.

Les phospholipides sont presque totalement hydrolysés par les phosphatidases pancréatiques, chacune des fractions étant obtenue suivant sa propre voie métabolique.
Le reste, une très faible quantité, est rapidement absorbé sans hydrolyse préalable et passe dans la lymphe sous forme de chylomicrons.

La solubilisation des acides gras saturés à longue chaîne (essentiellement acides palmitique et stéarique), situés en position externe du glycéride, apparaît donc comme le premier facteur limitant de l'assimilation des lipides. Cette solubilisation est un phénomène complexe requérant pour chaque variété de monoglycérides ou d'acides gras des conditions locales optimales de pH et de concentration en bicarbonates.

L'existence des "couches aqueuses non agitées" à travers lesquelles les micelles doivent diffuser pour atteindre les microvillosités, fait que cet handicap des acides gras saturés à longue chaîne, n'est pas compensé par leur solubilité plus grande dans la couche lipidique de la membrane microvillositaire.

La difficulté d'assimilation de ces lipides est accentuée par le fait que de l'autre côté de la membrane microvillositaire, ils doivent obligatoirement, après une étape d'activation, énergétiquement dépendante, être resynthétisés en triglycérides avant la formation des chylomicrons. Cette voie métabolique n'est indispensable que pour les acides gras saturés à longue chaîne.

La vitesse des réactions d'activation et de resynthèse étant strictement limitée, elle apparaît comme le second facteur limitant de l'assimilation de ces lipides.

## CONCLUSION

La digestion et l'absorption des lipides alimentaires, essentiellement constitués de triglycérides, est un phénomène physiologique complexe grâce auquel ces substances non hydrosolubles sont transformées en molécules suffisamment simples pour pouvoir traverser la paroi du tube digestif. Ce processus fait intervenir des mécanismes particuliers de solubilisation, de dégradation et de transport qui favorisent l'absorption des acides gras insaturés à chaîne courte.

La solubilisation et l'absorption des acides gras saturés à longue chaîne (essentiellement constitués d'acides palmitique et stéarique) ainsi que des glycérides qui en sont porteurs, constituent le facteur limitant de l'assimilation de ces lipides.
Cette assimilation dépend du bon fonctionnement d'organes essentiels tels que l'estomac, le foie, le pancréas, l'intestin grêle et le gros intestin dont l'action mécanique, les sécrétions et la capacité d'absorption favorisent les différents stades de leur digestion.
Un disfonctionnement de l'un quelconque de ces organes conduit à un défaut d'absorption intestinale de certaines fractions lipidiques qui s'accumulent dans les matières fécales entraînant une stéatorrhée caractéristique de ce type de pathologie.

# CHAPITRE II

## PATHOLOGIE

Le syndrome de malassimilation se définit comme l'ensemble des troubles dus à des phénomènes qui relèvent soit de *malabsorption* soit de *maldigestion*.

La malabsorption est un trouble de la fonction d'absorption du grêle alors que les enzymes digestifs ont une activité normale.

Un disfonctionnement, au niveau des glandes digestives annexes, entraîne une pathologie dont la traduction peut être similaire, d'autant plus qu'une maldigestion peut entraîner une malabsorption secondaire.

Le trait le plus caractéristique et le plus constant du syndrome de malassimilation est le trouble de l'absorption intestinale des lipides, caractérisé par la *stéatorrhée* (103).

Dans ce chapître, nous étudierons successivement :

- les formes étiologiques du syndrome de malassimilation ;
- les conséquences physiopathologiques de ce syndrome ;
- les méthodes d'analyse d'une stéatorrhée.

## SECTION I : *Formes étiologiques du syndrome de malassimilation.*

Comme beaucoup de classifications, celle des formes étiologiques du syndrome de malassimilation est complexe et ne peut être qu'imparfaite. En effet, si certains troubles sont vraiment idiopathiques, d'autres, apparemment primitifs ont une cause bien précise.

Dans certains cas, la pathologie traduit une maladie de la muqueuse ou de la paroi intestinale, dans d'autres, elle correspond à un déficit d'une sécrétion digestive dans la lumière intestinale. Or, il n'y a pas de séparation précise entre les derniers temps de la digestion et le début de l'absorption.

On distingue :

- les formes *primitives* : dans lesquelles la cause initiale de la maladie est un défaut de fonctionnement général de la muqueuse intestinale, le déficit fonctionnel de cette muqueuse pouvant être idiopathique ou secondaire à la présence d'un facteur alimentaire ou infectieux ;
- les formes *secondaires* : dans lesquelles la cause initiale de la maladie n'est pas un défaut de fonctionnement général de la muqueuse intestinale, mais un trouble fonctionnel ou lésionnel des autres organes digestifs ou une destruction d'une partie de la muqueuse normale par un processus inflammatoire ou tumoral.

### § I - FORMES PRIMITIVES

Ce groupe comporte :

- des affections dont l'origine est précisée : elles sont individualisées sous le nom de *syndrome coeliaque* ou *entéropathie au gluten* ;
- une maladie individualisée sur le plan clinique, mais dont l'étiologie reste mal définie : c'est la *stéatorrhée tropicale* ou *sprue tropicale* ;
- une série de manifestations cliniques associées ou non à des troubles enzymatiques, dont la signification soulève encore bien des discussions : *intolérances sélectives aux "hydrates de carbones"* ; *hypogamma-globulinémie* ; *entéropathie exsudative* ; *stéatorrhée idiopathique*.

## I - LE SYNDROME COELIAQUE

Ce syndrome englobe des affections définies par un critère histologique (la disparition des villosités intestinales au niveau du jéjunum) et un critère étiologique (le rôle du gluten).
Le facteur déclenchant, le *gluten* est une fraction protéique, représentant 10 à 15 % du poids de la farine de blé, de seigle ou d'avoine.
Le gluten peut être séparé en deux fractions : la *gliadine* soluble dans l'éthanol et la *gluténine* insoluble.
Le facteur pathogène est la gliadine, polypeptide d'un poids moléculaire d'environ 15.000, riche en glutamine et en proline. Le pouvoir pathogène de la gliadine est supprimé par une hydrolyse acide poussée, ou réalisée par la papaïne. En revanche, il persiste en présence de pepsine ou de trypsine. Il semble donc lié à un petit polypeptide.

Le mécanisme physiopathologique du syndrome coeliaque, actuellement proposé, est le suivant :
Un déficit congénital en papaïne intestinale permet à de grandes fractions protéiques issues de la gliadine et normalement hydrolysées par cet enzyme, de passer, sans hydrolyse préalable, la barrière intestinale. L'accumulation de ces protéines anormales dans les cellules intestinales constitue une agression antigénique. Celle-ci entraîne une réaction de défense de l'organisme, dite d'hypersensibilité retardée, sous la dépendance d'anticorps cellulaires locaux, n'apparaissant pas dans le sérum. Ces anticorps anti-protéines, de spécificité chimique très large, entraînent la destruction, non seulement des polypeptides issus de la gliadine, mais de ceux qui présentent un schéma structural semblable (103). Il en résulte une altération anatomique de la muqueuse, avec disparition des villosités et surinfection, entraînant l'aggravation du déficit enzymatique intestinal. Ce dernier touche l'ensemble des autres diastases et permet le passage, à travers la muqueuse, de grosses fractions protéiques qui accentuent la réaction antigène-anticorps.

## II - LA SPRUE TROPICALE

Observée en milieu tropical, sur un mode endémique ou épidémique, sa distribution est fréquente, aux Antilles, en Asie du sud-est, aux Indes, rare en Amérique du sud et plus rare encore en Afrique.

La maladie touche non seulement la population autochtone, mais aussi les résidents originaires de régions tempérées. Les troubles peuvent alors survenir longtemps après le retour dans le pays d'origine.
La sprue tropicale, affection bien individualisée sur le plan clinique, évolue classiquement en trois phases. Pendant la première phase, le sujet devient anorexique et se plaint d'une diarrhée chronique. Durant la deuxième phase, cette diarrhée prend progressivement les caractères d'une stéatorrhée et s'accompagne de signes de malabsorption et d'une dénutrition importante avec effondrement pondéral. La troisième phase est caractérisée par la prédominance des signes de carence en acide folique avec anémie macrocytaire, stomatite et aphtes multiples.

La cause de cette maladie reste mal définie. Les facteurs carentiels ne sauraient être retenus : l'affection est également observée chez des individus bien nourris. Le rôle du gluten ne peut être déterminant, le régime restrictif n'entraîne qu'une faible amélioration. Le facteur infectieux est certainement en cause, le traitement antibiotique étant très efficace. Cependant, on n'a pu individualiser aucun agent spécifique. Il semble qu'une modification de la flore microbienne normale, favorisée ou non par les parasitoses, une infection virale ou une moniliase, pourrait être le facteur déclenchant (103).

## *III - ETATS PATHOLOGIQUES DE SIGNIFICATION DISCUTABLE*

Dans certains cas, la signification d'un état de malabsorption est bien difficile à préciser et sa classification dans les formes primitives ou secondaires peut être discutable.

### A - Les intolérances sélectives aux glucides

On a décrit, surtout chez le nourrisson et l'enfant, des intolérances au lactose, au maltose, au saccharose, observées de plus en plus fréquemment chez l'adulte.

La biopsie intestinale a permis une étude enzymologique et mis en évidence un déficit en disaccharidase : lactase, maltase, sucrase. On a donc classé ces intolérances de l'enfant et de l'adulte dans les maladies par déficit enzymatique et on a même parlé d'erreur congénitale du métabolisme. Cependant, le déficit en disaccharidase est également observé dans la muqueuse intestinale de malades atteints de malabsorption, primitive ou secondaire, il accompagne l'atrophie villositaire.

Le retour à une muqueuse normale est suivi de la réapparition des enzymes. La théorie d'un déficit enzymatique primitif, responsable de la maladie intestinale et du défaut d'absorption est, actuellement, loin d'être admise. Le déficit semble souvent secondaire à l'atteinte anatomique de la muqueuse (103).

B - L'hypogamma globulinémie ou l'agamma globulinémie

L'association d'un état de malabsorption et d'une baisse, ou d'un défaut des gamma-globulines plasmatiques, a été observée à plusieurs reprises. Les relations physiopathologiques, entre ces deux symptômes, sont délicates d'interprétation. Schématiquement, on peut les classer de la manière suivante :

- la baisse des gamma-globulines peut être secondaire au déficit fonctionnel de la muqueuse intestinale. Le défaut d'absorption des acides aminés peut entraver la synthèse protéique. La muqueuse pathologique peut laisser fuir les gamma-globulines synthétisées dans le milieu intestinal ;
- la baisse des gamma-globulines peut être primitive et responsable de la malabsorption : un déficit primitif de synthèse des IgA, électivement élaborées par les plasmocytes de la muqueuse intestinale, favorise les lésions histologiques de cette muqueuse fragilisée, en particulier par contamination bactérienne, entraînant un déficit enzymatique, responsable de la malabsorption.

En effet, un des modes de défense de la cellule intestinale contre une agression antigénique semble être une réaction dite d'hypersensibilité, retardée sous la dépendance d'anticorps locaux cellulaires n'apparaissant pas dans le sérum.

Les plasmocytes, répartis tout le long du tube digestif dans l'épithélium de surface et entre les cryptes glandulaires, les follicules lymphoïdes, synthétisent localement des immunoglobulines et jouent un rôle protecteur de la muqueuse intestinale. Une défaillance de ce système amène un déficit immunitaire soit généralisé, soit localisé à la muqueuse, entraînant une atteinte de celle-ci.
La filiation des faits pourrait être la suivante : déficit primitif de la synthèse de l'*IgA globuline* par les plasmocytes intestinaux → déficit immunitaire local → contamination par germes pathogènes → atteinte de la muqueuse et malabsorption secondaire (85-103).

C - Entéropathie exsudative

Cette affection est caractérisée par des épanchements séreux, volontiers chyliformes, accompagnant un syndrome de malabsorption, les villosités intestinales étant normales.

La frontière entre l'entéropathie exudative et l'entéropathie au gluten n'est pas formelle. En effet, la fuite de protéines plasmatiques et la malabsorption sont généralement associées.
Certains patients, porteurs d'une entéropathie exudative avec muqueuse strictement normale, peuvent, dans un deuxième temps, constituer une entéropathie banale au gluten.
Il semble que ces deux affections soient deux aspects d'une même maladie (103).

D - Stéatorrhée idiopathique

On admet le diagnostic de véritable stéatorrhée idiopathique lorsque l'on se trouve en présence d'un syndrome de malabsorption primitif, comportant un aspect histologique normal des villosités, les troubles persistants malgré un régime sans gluten.

## § II - FORMES SECONDAIRES

### *I - D'ORIGINE GASTRIQUE*

Une malabsorption intestinale peut être en relation avec un déficit de la secrétion gastrique après *gastrectomie*, surtout totale, parfois partielle, ou même après *vagotomie*. Le rôle d'une atrophie complète de la muqueuse gastrique peut également être discuté. L'absence ou la diminution de la sécrétion acidopeptique de l'estomac peut, théoriquement, être directement en cause. En fait, le mécanisme des malabsorptions observées est beaucoup plus complexe. Dans le cas, par exemple, d'une gastrectomie totale, si l'*achylie* joue un rôle important, l'absence de réservoir gastrique, le mauvais mélange du bol alimentaire avec les sécrétions biliopancréatiques, le court-circuit duodénal, les modifications de la flore microbienne intestinale consécutives aux variations du pH, jouent un rôle plus important encore.

A l'inverse, l'hypersécrétion acide peut être responsable d'une malabsorption, c'est le cas du *syndrome de Zollinger-Ellison*. Cette maladie est causée par une tumeur des îlots de *Langerhans* dont les produits de métabolisme provoquent une hypersécrétion gastrique très acide et, dans la plupart des cas, des ulcères peptiques multiples du duodénum et du jéjunum.
La malabsorption est due à l'inondation de l'intestin par l'excès de sécrétion gastrique dont l'hyperacidité abaisse le pH, détruit ou inactive les enzymes pancréatiques et intestinales et accélère le transit alimentaire (65-103).

## *II - D'ORIGINE PANCREATIQUE*

Une malabsorption sévère, prédominante sur les lipides, peut être observée au cours d'un certain nombre d'affections pancréatiques : *pancréatites chroniques* avec ou sans calcification, *carcinome de la tête du pancréas*, *mucoviscidose*. La pathogénie de la malabsorption paraît simple à première vue puisque le déficit de la sécrétion pancréatique externe donc des enzymes est important.
En fait, il faut admettre l'intervention d'autres facteurs, en particulier, pour la *mucoviscidose*, maladie héréditaire et familiale qui se caractérise par un trouble fonctionnel étendu à toutes les glandes à sécrétion externe (65-103).

## *III - D'ORIGINE HEPATOBILIAIRE*

Une malabsorption importante touchant surtout les lipides et les substances liposolubles (vit. K) accompagne habituellement les *obstructions biliaires posthépatiques ou intra-hépathiques*, une *compression complète des voies biliaires*, une *cirrhose alcoolique ou biliaire*, des *anomalies qualitatives de la bile*.

o o

o

## SECTION II : *Conséquences physiopathologiques du syndrome de malassimilation.*

### § I - CONSEQUENCES AU NIVEAU DE L'EQUILIBRE ORGANIQUE

#### *I - DUES A LA SEQUESTRATION DES LIPIDES AU NIVEAU DES FECES*

Les lipides non absorbés stagnent au niveau de l'intestin. D'où :

- une diminution d'énergie, avec dénutrition graduelle, perte de poids constante, masquée parfois par des oedèmes, atrophie des muscles ;
- une malnutrition, due au défaut d'absorption des aliments liposolubles, au premier rang desquels se trouvent les vitamines liposolubles ;
- une altération du transit et du chimisme de la digestion intestinale. Celle-ci entraîne une formation excessive de gaz dus à la fermentation des glucides et à la putréfaction des matières protéiques, d'où un ballonnement et une distension abdominale, faisant contraste avec l'émaciation du corps ;
- un effondrement du taux des lipides et du cholestérol ;
- une lithiase rénale avec hyperoxalurie : la malabsorption des lipides provoquerait dans la lumière intestinale une précipitation du calcium par les acides gras libres. L'acide oxalique normalement présent dans l'intestin et non utilisé parce que sous forme de sels de calcium donnerait alors des sels de sodium, absorbables par la muqueuse intestinale et donc susceptible d'engendrer secondairement une hyperoxalurie et une lithiase rénale (20).

#### *II - DUES AUX CARENCES DIVERSES*

Une proportion anormale du calcium alimentaire, insolubilisé sous forme de savons calciques, est soustraite. D'autre part, nous l'avons vu, la stéatorrhée entraîne secondairement une accumulation intestinale des vitamines liposolubles parmi lesquelles le facteur D.

##### A - Carence en calcium et en vitamine D

Cette carence entraîne :

- chez l'enfant : rachitisme et ostéomalacie grave ;
- chez l'adulte : douleurs ostéo-articulaires ; ostéoporose et ostéomalacie. La déminéralisation de la trame osseuse peut, chez l'adulte, aboutir à un syndrome de *MILKMAN* et à des fractures spontanées.

La décalcification peut être aggravée par une hyperparathyroïdie secondaire, réactionnelle, qui mobilise le calcium osseux, entraînant une fuite de phosphates dans les urines et pouvant aboutir à des complications rénales. L'abaissement du calcium ionisé du plasma engendre des paresthésies, des signes de tétanie, éventuellement des crises convulsives.

Notons que l'hypomagnésiémie (généralement concommittante) peut entraîner des troubles analogues à ceux de l'hypocalcémie (65).

## B - Carence en vitamine K

Le défaut d'absorption intestinale de la vitamine K (liposoluble) peut causer un déficit en facteurs de la coagulation : proconvertine (VII), facteur antihémophilique B (IX), facteur de Stuart (X), mais surtout prothrombine (II). Il s'en suit des troubles de l'hémostase, généralement bénins : épistaxis, ecchymoses spontanées, purpuras. Plus rarement, on peut observer des saignements importants, voir de grandes hémorragies : vésicales, utérines, gastro-intestinales. Ces troubles ne s'amendent que par l'administration parentérale de vitamine K.

## C - Carence en facteurs antianémiques

Les facteurs sont le fer, l'acide folique et la vitamine $B_{12}$. Ce type de carence est responsable de l'anémie, présente dans plus de la moitié des cas. D'intensité très variable, cette anémie est, habituellement hypochrome, mais peut être macrocytaire avec mégaloblastose médullaire si la malabsorption de vit. $B_{12}$ ou d'acide folique est prédominante.

La carence en facteurs antianémiques engendre une glossite précoce et une stomatite pouvant s'accompagner d'une séméiologie fonctionnelle précise et favorisant la dénutrition en raison de la dysphagie.

Dans les carences importantes en vit. $B_{12}$, on observe des troubles des nerfs périphériques. Cette perte de vitamine $B_{12}$ est surtout marquée après résection de portions étendues de l'iléon terminal où elle est absorbée ou dans les cas de pullulations microbiennes anormales, accompagnant les fistules entéro-entériques et la diverticulose (65).

### *III - DUES A DES TROUBLES DE L'ABSORPTION INTESTINALE DE L'EAU ET DES ELECTROLYTES*

Au cours d'épisodes de diarrhées, on peut observer une asthénie marquée, une chute de la pression artérielle, une tendance à la déshydratation, une hyponatrémie, une hypokaliémie ; cette dernière pouvant engendrer des paresthésies, des crampes musculaires et des troubles cardiaques électriques.

La polyurie nocturne, symptôme classique des épisodes non diarrhéiques, extériorise le retard de l'absorption de l'eau et des électrolytes (103).

### *IV - DUES A DES TROUBLES DE L'ABSORPTION DES OSES ET DES PROTEINES*

Dans le syndrome de malassimilation, l'hypoglycémie est fréquente. La courbe d'hyperglycémie provoquée au glucose par voie orale est souvent plate. Le xylose n'est pas absorbé. L'hypoprotéinémie est habituelle, ce qui entraîne une chute de la pression onchotique, chute reponsable d'oedèmes. Si le taux des gamma-globulines plasmatiques s'effondre, les infections pulmonaires à répétition sont fréquentes et peuvent représenter une véritable complication de la maladie (103).

## § II - CONSEQUENCES AU NIVEAU DES SELLES

### *I - ASPECT GENERAL*

Les conséquences les plus intéressantes du syndrome de malassimilation, au niveau des selles, font l'objet de l'*analyse coprologique fonctionnelle* codifiée par GOIFFON (61).

Elle consiste en une étude macroscopique, microscopique et chimique portant sur le poids, l'aspect, l'odeur, la couleur, le taux d'hydratation, le pH des selles, la présence et le degré de digestion du tissu conjonctif, des féculents, de l'oxalate de calcium, des fibres musculaires, des graisses neutres, des acides gras et savons, de la bilirubine, de la stercobiline, de la cellulose digestible, de l'amidon, du mucus, des leucocytes, des hématies, des cellules épithéliales, de la mucine, des albumines solubles, de l'hématine, de la flore microbienne iodophile, des champignons, des spirochètes, des acides organiques et de l'ammoniaque.

De ces 28 paramètres, un seul mérite d'être recherché systématiquement : la concentration en lipides, responsable de la *stéatorrhée*. Les autres sont, en effet, beaucoup plus inconstants (103), puisque, en cas d'insuffisance digestive, le côlon, ses micro-organismes et ses enzymes peuvent assurer jusqu'à 50 % des fonctions digestives pour tous les aliments sauf les lipides (7). Cette stéatorrhée est généralement accompagnée d'une *diarrhée* dont il est toujours utile de noter la présence et les caractéristiques (61-105).

## II - LA STEATORRHEE

Un trouble de l'assimilation des lipides conduit à la stéatorrhée caractérisée par la présence de quantités anormales de graisses dans les selles.
La composition lipidique de la selle de 24 heures, obtenue par les voies naturelles, chez 18 sujets américains adultes et sains, soumis à un régime normal, est la suivante (40).

TABLEAU N° I

TABLEAU REPRESENTATIF DES TAUX NORMAUX DE LIPIDES FECAUX

| SUBSTANCES | MOYENNE g/24 h | VARIATIONS en g | POURCENTAGES | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Moyenne | Variations |
| Lipides totaux | 4,49 | 1,82-11,38 | - | - |
| Stérols libres | 1,89 | 0,73- 3,84 | 42,1 | 29,1-58,8 |
| Stérols estérifiés | 0,42 | 0,05- 1,55 | 9,4 | 2,7-18,9 |
| Glycérides | 0,40 | 0,06- 3,82 | 8,9 | 1,4-45,0 |
| Acides gras libres | 1,50 | 0,66- 3,82 | 33,3 | 23,2-45,0 |
| Phospholipides | 0,28 | 0,13- 0,44 | 6,3 | 2,1-12,1 |

Le taux relativement important de cholestérol libre retrouvé dans des selles normales est dû au fait que la capacité d'absorption de l'intestin pour ce lipide est limitée à 2 g de cholestérol exogène par 24 h, soit 200 à 500 fois moins que celle de l'ensemble des produits de dégradation des triglycérides. Or, un sujet normal peut arriver à absorber jusqu'à 5 g de cholestérol alimentaire par 24 h, l'excédent se retrouvant dans les selles (124).

Il faut également tenir compte du fait que ces chiffres proviennent d'une population américaine friande de "ice-creams", produits contenant des stabilisants à base de cholestérol.

En Europe, chez l'adulte et l'enfant, on parle de *stéatorrhée* en présence de selles contenant plus de 5 gr de lipides par 24 h, soit plus de 7 % des graisses ingérées ou plus de 25 % du poids fécal sec (124).
Les selles sont généralement volumineuses, pouvant atteindre plusieurs kilogrammes en 24 heures : cette mesure a une grande valeur chez l'enfant (103). Elles présentent une consistance molle, une coloration grisâtre, une odeur rance, un aspect graisseux, luisant.

Chez le nourrisson, on dit qu'il y a stéatorrhée dès que le débit fécal des lipides est supérieur à 3 g par jour, ce taux pouvant atteindre 25 g. Le plus souvent, ce trouble est consécutif à des fautes de régime (surcharges alimentaires, dyspepsie au lait de vache).

La stéatorrhée peut, dans certains cas, constituer un stigmate biochimique latent chez des individus ne présentant pas de troubles évidents de la fonction intestinale et dont l'état général est peu perturbé (103).

Nous étudierons les caractéristiques biochimiques de la stéatorrhée dans le cas d'une :
- insuffisance hépato-biliaire ;
- insuffisance pancréatique ;
- modification de volume et de pH du contenu jéjunal ;
- modification de la microflore intestinale ;
- atteinte de la muqueuse ou de la circulation du grêle.

## A - Cas de l'insuffisance hépatobiliaire

Nous avons vu le rôle fondamental des sels biliaires dans la digestion et l'absorption intestinale des lipides. Nous savons, en particulier, que la constitution de micelles est conditionnée par la concentration micellaire critique de sels biliaires conjugués qui, dans les conditions physiologiques, est de l'ordre de 1 à 2 µM/ml.

Nous savons aussi que la solubilisation, dans ces micelles, des acides gras saturés à longue chaîne (essentiellement acides palmitique et stéarique), libres ou situés en position externe dans un glycéride, est indispensable à la digestion et à l'absorption de ces lipides.

Les autres, en particulier les acides gras saturés ou insaturés à chaîne courte (< $C_{10}$) et les monoglycérides qui en sont porteurs, s'adsorbent bien, même en l'absence totale de sels biliaires conjugués (atrésie des voies biliaires).

Ainsi, les cirrhoses, les anomalies qualitatives de la bile, les obstructions et les compressions biliaires s'accompagnent-elles, habituellement, d'une stéatorrhée moyenne. Cette stéatorrhée est essentiellement caractérisée par une augmentation sélective :

- des acides gras saturés à longue chaîne (> $C_{16}$ ou $C_{18}$) et, éventuellement, des monoglycérides qui en sont porteurs. En l'absence de sels biliaires, nous avons vu que le $Ca^{2+}$ pouvait être un activateur de la lipase pancréatique. Cela explique que, dans ce cas, nous retrouvions une grande quantité d'acides gras sous forme de savons de calcium ;
- lorsqu'il existe un trouble des fonctions biosynthétiques du foie (biosynthèse des albumines sériques), on observe aussi une augmentation sélective des acides gras à chaîne courte (< $C_{12}$) ceux-ci devant être liés à l'albumine pour passer dans les capillaires portes.

B - Cas d'une insuffisance pancréatique

Nous avons vu que la sécrétion pancréatique exocrine contenait des estérases, dont la lipase pancréatique, enzyme responsable de l'hydrolyse de la quasi totalité des tri et diglycérides en monoglycérides et acides gras libres.

Nous avons vu aussi que la neutralisation des acides gras (en particulier oléique, linoléique, laurique et à un moindre degré myristique par les bicarbonates pancréatiques, augmente leur coefficient de partage en faveur de la phase micellaire ; que leur solubilisation, ainsi réalisée, favorisait à son tour l'ionisation d'autres acides gras, déplaçant constamment l'équilibre dans le sens d'une hydrolyse plus complète et bloquant la réestérification éventuelle des glycérides partiels, par la lipase.

Les pancréatites chroniques, avec ou sans calcification, la mucoviscidose, le carcinome de la tête du pancréas devraient donc s'accompagner d'une stéatorrhée portant tout particulièrement sur les glycérides. En fait, ceux-ci lorsqu'ils ne sont pas hydrolysés dans le grêle, peuvent l'être, après un séjour suffisant dans le côlon, par les lipases microbiennes et intestinales (61).

Ainsi, la stéatorrhée se caractérise par :

- une très forte augmentation des lipides fécaux totaux ;
- une concentration de glycérides beaucoup plus importante que la normale (ce signe étant très inconstant) ;
- une augmentation généralement très forte des acides gras à longue chaîne saturés et insaturés.

La concentration des acides gras insaturés est d'autant plus importante que la sécrétion de bicarbonate pancréatique est plus diminuée : c'est le cas, en particulier, de la *mucoviscidose* (71).

C - Cas d'une modification de volume et de pH du contenu jéjunal

Le cas typique est l'hypersécrétion gastrique, caractéristique du syndrome de ZOLLINGER-ELLISON, où le volume des sécrétions jéjunales augmente considérablement et où le pH se situe entre 1,5 et 3, la normale étant voisine de 6,5. Dans ces conditions :

- la lipase pancréatique est inactivée en quelques minutes de manière irréversible ;
- les graisses non hydrolysées ne peuvent pas, à un pH, anormalement bas, contribuer à la formation de micelles d'autant plus que les sels biliaires (di-hydroxylés) glyco-conjugués qui y participent, précipitent à un pH inférieur à 4,5.

La stéatorrhée est caractérisée par une augmentation fécale de toutes les fractions lipidiques, à l'exception des acides gras saturés à chaîne courte qui sont bien absorbés. Les acides gras insaturés sont mal absorbés du fait de la diminution des bicarbonates pancréatiques utilisés pour neutraliser l'hyperacidité.

Inversement, des stéatorrhées peuvent également s'observer à la suite d'un déficit de la sécrétion gastrique, surtout après une gastrectomie. Dans ce cas, si l'absence ou la diminution de la sécrétion acido-peptique de l'estomac joue un rôle important, l'absence ou la réduction du réservoir gastrique, le mauvais mélange du bol alimentaire avec les sécrétions bilio-pancréatiques, le court-circuit duodénal, les modifications de la flore microbienne intestinale, consécutives aux variations de pH, jouent un rôle plus important encore (124).

La stéatorrhée est, alors, d'importance moyenne et porte sur les fractions de lipides estérifiés ainsi que sur les acides gras saturés à longues chaînes.

D - Cas des modifications de la microflore intestinale

Au cours de certains états pathologiques (anses borgnes, diverticules du grêle, sclérodermie, fistules intestinales, syndrome de Crohn, tuberculose), la stagnation du contenu intestinal entraîne fréquemment une pullulation microbienne. En outre, la concentration intestinale en germes est normalement inférieure ou égale à $10^4$ micro-organismes par ml. Il s'agit le plus souvent de germes anaérobies (*bactéroïdes, bifidus, clostridies*) mais aussi de *coliformes, d'entérobactéries et de pseudomonas* (63).

FLOCH et coll. (44) ont montré que les sels biliaires conjugués, contrairement aux libres, inhibent la multiplication de la flore anaérobie et des souches gram positives. Une diminution de concentration de ces sels biliaires, des troubles du transit, des mutilations chirurgicales de l'intestin favorisent donc une contamination bactérienne de la partie supérieure du grêle (30).

En présence de ces bactéries, les sels biliaires subissent, au niveau du grêle des phénomènes de déconjugaison et de déshydroxylation qui surviennent normalement dans la lumière colique (109-132-142-157). Les sels biliaires libres ne peuvent plus participer à la formation de micelles nécessaires à la mise en solution et à l'absorption de la plus grande partie des lipides. Secondairement, cette contamination bactérienne de la partie supérieure du grêle peut engendrer des modifications histologiques de la muqueuse (64).

La stéatorrhée qui en résulte est, dans le premier stade, de type hépato-biliaire, la surcharge lipidique portant essentiellement sur les acides stéarique et palmitique. Puis, au fur et à mesure de la dégradation de la muqueuse intestinale, nous assistons à une augmentation fécale de toutes les fractions lipidiques non estérifiées.

E - Cas d'une atteinte de la muqueuse ou de la circulation du grêle

L'iléon étant le siège de la réabsorption active des lipides et des sels biliaires, toute atteinte de la muqueuse qu'il s'agisse de la résection chirurgicale ou d'atteinte pariétale (entérite régionale, tuberculose, infiltrations amyloïdes, irradiations etc...) entraîne des

stéatorrhées d'autant plus importantes que l'altération de la muqueuse est plus étendue (52). La stéatorrhée est globale et porte sur l'ensemble des fractions lipidiques non estérifiées. Il faut cependant savoir que dans les cas de sprue et de maladie coeliaque, on peut observer une augmentation des fractions estérifiées quand le transit du grêle est trop rapide.

Lorsqu'il existe une hypertension ou un obstacle important sur les voies veineuses de drainage, on peut observer une stéatorrhée touchant de préférence les acides gras à chaîne courte saturés et insaturés (86-103).
Lorsque cet obstacle touche les voies de draînage lymphatiques de la muqueuse intestinale, la stéatorrhée porte, surtout, sur les acides gras saturés à longue chaîne, en particulier les acides stéarique et palmitique (166).

## *III - LA DIARRHEE*

Actuellement, on parle de diarrhée en présence de selles hyperhydratées et insuffisamment digérées, mais aussi, chaque fois qu'il existe une augmentation, globale ou partielle, du débit fécal quotidien et non pas seulement lorsque cette augmentation porte sur l'eau.
Ainsi, on peut dire qu'il y a diarrhée devant un débit fécal supérieur à :

- 150 g/j chez l'adulte et l'enfant de plus de 5 ans ;
- 110 g/j chez l'enfant de 2 à 5 ans ;
- 70 g/j de 1 à 2 ans ;
- 35 g/j de 6 mois à 12 mois ;
- 25 g/j de 2 à 6 mois.

La définition actuelle de la diarrhée fait intervenir des notions de physiologie. En effet, chez le sujet normal, les résidus alimentaires franchissent la jonction iléo-caecale deux heures trente à quatre heures après avoir dépassé le pylore ; ils parcourent le côlon en 18 à 36 heures en moyenne et sont ainsi émis par l'anus 24 à 48 heures après l'ingestion (105). Durant cette traversée, le chyme subit deux transformations majeures :

- une *déshydratation* progressive par réabsorption aqueuse qui se produit tout le long du grêle avec un maximum dans l'iléon ; le côlon, principalement le gauche, assure 10 % de la déshydratation (7) ; ainsi, la selle contient normalement, chez l'adulte et l'enfant, 78 % d'eau.

Elle en contient 82 à 83 % quand elle vient directement du côlon transverse ou du côlon gauche, 84 ou 85 % quand elle vient de l'iléo-caecum, 90 à 95 % quand elle vient du jéjun iléon (61). Cette notion d'hydratation est fondamentale car la concentration en eau des selles dépend, non pas de la quantité de liquides alimentaires ingérés mais, pour la quasi totalité, des fonctions digestives dont elle est le fidèle reflet. C'est ainsi que les mouvements péristaltique influent sur l'importance de l'absorption de l'eau (108). Cette dernière est en relation avec l'état de la circulation intestinale : l'hypertension portale, tous les facteurs de stase veineux et lymphatique provoquent une diminution significative de l'absorption intestinale de l'eau et donc une *hyperhydratation* (108).
Notons que chez le nourrisson, le taux d'hydratation fécale est très dépendant du type d'alimentation, l'allaitement maternel donnant, en particulier, des selles beaucoup plus hydratées que l'allaitement artificiel. De même, une surcharge alimentaire engendre, chez le nourrisson, des selles hyperhydratées.

- une *dégradation* des résidus hydrocarbonés :
  a) amidons et disaccharides, qui ont échappés à l'attaque des enzymes digestifs d'origine pancréatique ;
  b) cellulose et hemi-cellulose qui résistent à ces ferments et ne sont dégradées que par des microbes anaérobies qui prolifèrent surtout dans le caecum et le côlon droit.

Nous étudierons les caractéristiques biochimiques de la diarrhée dans le cas d'une :

- insuffisance hépatobiliaire ;
- insuffisance pancréatique ;
- modification de volume et de pH du contenu jéjunal ;
- modification de la micro-flore intestinale ;
- atteinte de la muqueuse ou de la circulation du grêle.

Nous n'étudierons pas les diarrhées d'origine thérapeutique dues, par exemple, à l'absorption de sulfate de soude.

A - Cas de l'insuffisance hépatobiliaire

Il s'agit essentiellement d'une diarrhée graisseuse caractérisée par :

- des selles d'un volume moyen : le poids évacué est un peu supérieur à 150 g ;
- une bonne dégradation des résidus hydrocarbonés fécaux. Elle témoigne d'un transit peu accéléré ;
- un degré d'hydratation fécale inférieur à 78 %, en relation avec un transit colique relativement lent.

B - Cas d'une insuffisance pancréatique

Il s'agit d'une diarrhée graisseuse caractérisée par :

- des selles très volumineuses d'un poids égal ou supérieur à 1 kilogramme ;
- une bonne dégradation des résidus hydrocarbonés fécaux à l'exception de l'amidon, normalement digéré par les amylases pancréatiques et qui se retrouve ici en grande quantité. La bonne digestion des celluloses témoigne d'un transit peu accéléré ;
- un degré d'hydratation fécale inférieur à 78 % qui rend compte d'un transit colique relativement lent.

C - Cas d'une modification de volume et de pH du contenu jéjunal

Dans les hypersécrétions gastriques, il s'agit d'une diarrhée aqueuse et rebelle que l'on peut expliquer par l'action irritante des sels biliaires non réabsorbés (56). En effet, l'arrivée dans le côlon de quantités excessives de sels biliaires di-hydroxylés, entraîne une augmentation de la motricité colique, inhibe les phénomènes d'absorption et provoque la sécrétion d'eau et de sodium (117).

Les selles sont liquides ou très pâteuses, le taux d'hydratation est supérieur à 85 %, les résidus hydrocarbonés fécaux (amidon, cellulose, hemi-cellulose) sont très mal digérés, l'ensemble témoignant d'un transit accéléré. Le poids de selles est très supérieur à 150 g.

Dans les insuffisances gastriques, la diarrhée est beaucoup plus faible que dans le cas précédent, le taux d'hydratation est supérieur à 78 %, mais les résidus hydrocarbonés assez bien digérés, le poids de selles étant normal (≃ 150 g).

Dans les post-gastrectomies, le poids de selles est très supérieur à 150 g, le pourcentage en eau inférieur à 78 % ; les résidus hydrocarbonés assez bien digérés.

D - Cas des modifications de la microflore intestinale

Les modifications peuvent être dues à des perturbations physiologiques telles que des variations de pH ou, anatomiques comme une diverticulose du grêle.

Dans le syndrome de ZOLLINGER-ELLISON, on observe une diarrhée hydro-électrolytique. Cette diarrhée est due à la précipitation, provoquée par une diminution de pH, de quantités importantes d'acides biliaires di-hydroxylés et à leur action irritante sur la muqueuse colique (117).
Les selles sont liquides ou très pâteuses, le taux d'hydratation très supérieur à 85 %, les résidus hydrocarbonés fécaux assez bien digérés.

E - Cas d'une atteinte de la muqueuse ou de la circulation jéjunale

La réabsorption intestinale de l'eau a lieu, essentiellement, tout le long du grêle, avec un maximum dans l'iléon, le côlon, principalement le gauche. Elle n'assure, dans les conditions normales, que 10 % de la déshydratation des selles. Cette réabsorption se fait en même temps que celle du sodium suivant les lois du transport actif, le passage par diffusion passive jouant un rôle plus accessoire (103).
Toute atteinte de l'intégrité anatomique, histologique ou chimique de la muqueuse du grêle s'accompagne donc de selles hydratées.

L'état de la circulation intestinale joue aussi un rôle très important dans les échanges d'eau et d'électrolytes. LEE (106) a montré que, chez le rat, *in vitro*, l'eau transportée à travers la paroi intestinale apparait essentiellement au niveau des canaux lymphatiques (85 % $\pm$ 8 %) alors que le flux veineux n'en recueille que 11 $\pm$ 7 %.

SHIELDS (150) a étudié chez le chien, *in vitro*, les effets de l'augmentation de la pression portale sur les mouvements d'eau et de sodium. La simple mise en place d'un ballonet gonflable au niveau de la veine porte provoque une réduction importante de l'absorption de l'eau et du sodium. L'hypertension portale, tous les facteurs de stase veineux ou lymphatiques engendrent donc une hyperhydratation fécale importante.

Il en est de même lorsque de grandes quantités de lipides sont absorbées au niveau du grêle ; d'après LEE, s'il y a absorption simultanée de graisses, le flux veineux disparaît, un fluide laiteux apparaît au niveau des canaux lymphatiques et l'absorption d'eau est, au niveau de l'intestin, réduite d'environ 60 %.
Dans tous les cas, la diarrhée est caractérisée par un poids de selles très supérieur à 150 g, un pourcentage en eau compris entre 78 et 85 %, des résidus hydrocarbonés bien digérés.

Sur le tableau n° 2, nous avons schématisé les caractéristiques de la stéatorrhée et de la diarrhée qui accompagnent les différentes pathologies responsables de troubles de l'assimilation des lipides, que nous venons d'étudier.

*TABLEAU N° II*

*TABLEAU RECAPITULATIF DES CARACTERISTIQUES DE LA DIARRHEE ET DE LA STEATORRHEE DANS LES DIFFERENTS SYNDROMES RESPONSABLES DE TROUBLES DE L'ASSIMILATION DES LIPIDES*

| ETIOLOGIE | STEATORRHEE | | | | | | | POIDS DE SELLES g/24 h | DIARRHEE | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | GLYCERIDES ET STERIDES | CHOLESTEROL LIBRE | ACIDES GRAS LIBRES | | | | | | % en EAU | RESIDUS HYDROCARBONES | |
| | | | TOTAUX | SATURES | | INSATURES | | | | CELLULOSE DIGESTIBLE | AMIDON |
| | | | | A CHAINE COURTE | A CHAINE LONGUE | A CHAINE COURTE | A CHAINE LONGUE | | | | |
| NORMAL | + | + | ++ | ± | + | 0 | ± | 150 | 78 | RARE | RARE |
| INSUFFISANCE GASTRIQUE | ++ | + | +++ | ± | ++ | 0 | ± | 150 | > 78 | ± | ± |
| POST-GASTRECTOMIE | ++ | + | +++ | ± | ++ | 0 | ± | > 150 | < 78 | ± | + |
| HYPERSECRETION GASTRIQUE | +++ | ++ | ++++ | ± | ++ | 0 | ++ | >> 150 | > 85 | +++ | +++ |
| INSUFFISANCE HEPATO-BILIAIRE | ++ | ++ | +++ | + si trouble de synthèse du foie | ++ | + si trouble de synthèse du foie | ± | > 150 | < 78 | RARE | 0 |
| INSUFFISANCE PANCREATIQUE | +++ | + | ++++ | ± | ++ | 0 | ++ | > 1000 | < 78 | RARE | +++ |
| STADE I DYSMICROBISME | ++ | ++ | +++ | ± | ++ | 0 | ± | > 150 | < 78 | RARE | 0 |
| STADE II | ++ | +++ | ++++ | ± | ++ | ± | + | > 1000 | > 85 | + | + |
| INSUFFISANCE DU GRELE | ± | +++ | ++++ | ± | ++ | ± | + | > 1000 | > 85 | +++ | +++ |
| LYMPHATIQUE | + | ++ | +++ | ± | ++ | 0 | ± | > 150 | 78-85 | RARE | RARE |
| TROUBLE DE LA CIRCULATION VEINEUSE | + | + | +++ | + | + | ± | ± | > 150 | 78-85 | RARE | RARE |

L'étude de ces paramètres fait ressortir l'intérêt de ces examens dans le diagnostic différenciel de ces différents désordres.

## SECTION III : *Méthodes classiques d'analyse des lipides fécaux.*

L'assimilation des lipides est, nous l'avons vu, un des meilleurs témoins de la fonction digestive. Son étude peut se faire :

- soit *indirectement*, par utilisation de traceurs ou par biopsie jéjunale ;
- soit *directement*, par analyse des lipides fécaux. Seul ce dernier examen entre dans le cadre de notre étude.

Les différentes fractions lipidiques fécales se trouvent sous deux formes particulières :

- l'une *liposoluble* : ce sont les graisses libres (triglycérides, phospholipides, acides gras libres, cholestérol libre et estérifié) et les lipides constitutifs de certaines cellules ou des bactéries. Ces graisses sont solubles dans les solvants organiques après destruction des cénapses ;
- l'autre *non liposoluble* : ce sont les savons (sels d'acides gras et d'un ion métallique) qui sont hydrosolubles si l'électrolyte associé est le sodium ou le potassium, insolubles dans l'eau si cet électrolyte est le calcium.

L'étude de la stéatorrhée peut se faire par des méthodes soit qualitatives, soit quantitatives.

### § I - METHODES QUALITATIVES

Ces techniques ont été décrites par GOIFFON (61). Elles consistent en une étude microscopique directe des lipides fécaux, après coloration ou en lumière polarisée.

#### *I - ANALYSE MICROSCOPIQUE APRES COLORATION*

Cette méthode permet de caractériser les acides gras libres, les savons alcalino-terreux et les graisses neutres, qui, ici, correspondent aux glycérides. Le principe de caractérisation des graisses neutres est fondé sur le fait que ces lipides se présentent en globules ou en plaques, colorés différemment suivant le colorant utilisé : en acajou par l'iode, en rouge par le Soudan III, en bleu par le bleu de Nil (d'autres colorants peuvent être employés).

On ne peut confondre les graisses neutres avec l'huile de paraffine, car les premières captent les colorants précédemment cités et sont plus colorées que le fond de la préparation, alors que la seconde ne les prend pas et est plus claire que le fond de la préparation.

Les acides gras sont visibles sous forme d'aiguilles ou d'amas cristallins enchevêtrés ; parfois, dans les selles liquides, ces aiguilles entourent les gouttelettes de graisses neutres.

Les savons alcalino-terreux se présentent sous forme d'amas amorphes ou de disques radiés difficiles à identifier.

## *II - ANALYSE MICROSCOPIQUE EN LUMIERE POLARISEE*

L'examen microscopique en lumière polarisée mis au point par R. GOIFFON (61) est un complément indispensable de la méthode précédente pour une meilleure approche diagnostique des stéatorrhées. Il permet une excellente caractérisation des acides gras et des savons.

La technique de cette analyse est la suivante : sur une lame porte-objet, on étale et on écrase, avec une lamelle, un fragment de selles avec une ou deux gouttes d'acide acétique ou d'acide chlorhydrique dilué au 1/3. On chauffe doucement la préparation sur la veilleuse d'un bec Bunsen jusqu'à début d'ébullition. On appuie, à nouveau, la lamelle sur la lame et on porte sous le microscope muni d'un dispositif d'examen en lumière polarisée. On met au point rapidement, on croise les nicols puis on poursuit l'examen.

L'acidité et la chaleur ont permis aux savons de se transformer en acides gras. La chaleur fait fondre les acides gras préexistants et les nouveaux formés. A mesure que les acides gras franchissent leur point de fusion, ils cristallisent. En refroidissant, la préparation se remplit d'éclats lumineux dès que les acides gras fondus se cristallisent. Aucun élément cristallin des selles ne possède ce comportement en dehors des acides gras et des savons.

## *III - CRITIQUE DE CES METHODES*

L'observation des lipides fécaux au microscope, après coloration ou en lumière polarisée, n'a qu'une valeur d'orientation et ne peut se substituer au dosage.

En effet, il n'existe pas de relation quantitative entre la teneur d'une selle en lipides et l'abondance des globules lipidiques microscopiquement visibles (3). Cependant toute association de graisses abondantes, neutres ou acides, avec des fibres musculaires intactes doit faire suspecter une *insuffisance pancréatique*.
L'abondance des acides gras libres, sans graisses neutres, associée à la présence de fibres musculaires bien digérées doit évoquer :

- l'*insuffisance biliaire* quand les selles ne contiennent ni bilirubine, ni stercobilinogène ;
- la *sprue* ou la *maladie coeliaque* quand les pigments biliaires sont normalement représentés.

Ce type d'examen nécessite un observateur entraîné, capable d'utiliser et d'interpréter ces procédés microscopiques dont le principal intérêt réside dans la rapidité d'exécution (61).

## § II - METHODES QUANTITATIVES

Le dosage des lipides fécaux est un examen fondamental dans l'appréciation des troubles de l'assimilation. Cependant, les résultats n'ont de valeur que si certaines conditions sont réalisées. En effet, la selle analysée doit refléter l'état fonctionnel du sujet indépendamment de tous facteurs surajoutés (3).

Ce but est atteint en respectant les conditions suivantes (3-61-103) :

- absence de médications quatre ou cinq jours avant le prélèvement, en particulier de charbon, kaolin, sel de bismuth, baryte, huile de paraffine et de toutes substances médicamenteuses agissant sur le métabolisme des lipides et la vitesse du transit intestinal ;
- alimentation variée : on admet de plus en plus l'inutilité des repas d'épreuves, tandis qu'on insiste sur la nécessité de ne pas perturber les habitudes du malade. Il faut donc simplement s'assurer que les repas des quatre à cinq jours qui précèdent l'analyse (et non seulement la veille) soient équilibrés en glucides, protides et lipides ;
- émission spontanée des selles, l'emploi des laxatifs devant, autant que possible, être évité, sinon le signaler ;

- analyse de la selle récemment émise ou maintenue au réfrigérateur afin d'éviter la prolifération microbienne. L'examen doit être fait, si possible, dans la journée.
- prélèvement des selles indépendamment des urines.

Les résultats obtenus peuvent être rapportés à des paramètres variés (123-108) :

- le pourcentage d'absorption d'un régime gras déterminé (normal > 93 %) ;
- le pourcentage du poids fécal sec sous régime ordinaire stabilisé (normal < 20 %) ;
- les débits par 24 heures mesurés sur trois jours, sous régime ordinaire stabilisé depuis 4 jours et contrôlé depuis 48 heures (normal : 3,5 $\pm$ 1 g/24 h).

De nombreuses techniques ont été proposées pour doser les lipides fécaux, ce qui montre la difficulté d'en avoir une entièrement satisfaisante. Nous nous bornerons à donner le principe des méthodes les plus classiques, discutant l'intérêt et les inconvénients de chacune.

## *I - METHODES COMPORTANT UNE EXTRACTION A CHAUD*

### A - Méthode de KUMAGAWA

Après une déshydratation des selles par l'alcool, on effectue, à l'aide d'un appareil de KUMAGAWA, une extraction continue à chaud par l'alcool-éther. L'extrait lipidique obtenu par évaporation est alors purifié en reprenant par le chloroforme. Le dosage se termine par une pesée.

Cette méthode (102) assez longue par l'extraction (9 h) et les évaporations demande peu de manipulations.

### B - Méthode de VAN DEN KAMER (technique B)

Cette méthode (163) dont il existe deux modalités permet dans le premier cas de doser les acides gras totaux, dans le second, les graisses hydrolysées et les graisses neutres.

La technique A comporte une extraction à froid, elle sera décrite ultérieurement.

- *Technique B* : Dosage séparé des acides gras et des graisses neutres :

Les acides gras sont libérés des savons par une ébullition d'une minute avec HCl dilué (2,5 %). L'éther de pétrole extrait les acides gras libres et les graisses neutres. Dans une partie aliquote évaporée, les acides gras libres sont titrés, puis les graisses neutres sont saponifiées par un excès de potasse isobutylique dont on dose l'excès par HCl 0,1 N.

Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide stéarique en ce qui concerne les acides gras libres ; en équivalents de tristéarine en ce qui concerne les graisses neutres.

C - Méthode de MERLAND-COUTHURES

Cette méthode (119) dérive directement de la technique B de VAN DEN KAMER.
Nous décrirons son protocole opératoire *in extenso* car, dans la suite de ce travail, nous comparerons ses performances à celles des méthodes mises au point par nous. Elle comprend plusieurs étapes successives qui sont les suivantes :

1°) Hydrolyse des selles :

Dans une allonge, on introduit 5 grammes de selles, préalablement pesées dans un bouchon en matière plastique. On ajoute 22 ml d'acide chlorhydrique à 2,5 %, saturés en NaCl. Après avoir mélangé, on porte à ébullition pendant une minute exactement, sous réfrigérant à reflux. On refroidit immédiatement à l'eau froide. Le temps d'hydrolyse a pour but de libérer les acides gras des savons et de permettre leur solubilisation ultérieure dans les solvants organiques.

2°) Extraction :

Dans l'allonge, complètement refroidie, on introduit 40 ml d'éthanol amylique et 70 ml d'hexane, mesurés à l'éprouvette. On bouche hermétiquement et on agite énergiquement pendant 2 minutes exactement, en maintenant le bouchon avec les doigts. On laisse décanter, de légères rotations activent la décantation.

3°) Dosage :

- *Evaporation* :

Dans un erlenmeyer à col rôdé, on introduit 25 ml de la phase supérieure (hexane où se trouvent les graisses dissoutes). On évapore sous vide en chauffant dans un bain marie maintenu entre 60 et 70°C. On reprend, par 2 ml d'alcool neutralisé ; on ajoute 5 gouttes de bleu de thymol.

- *Titration* :

On titre par de la potasse alcoolique 0,1 N jusqu'à virage au bleu soit n ml le volume de potasse versé.

- *Saponification* :

On ajoute au liquide précédent 10 ml de potasse 0,1 N, on porte à ébullition sous réfrigérant à reflux pendant 15 mn. On laisse refroidir, on dose l'excédent de potasse par HCl 0,1 N, jusqu'à virage au jaune soit n' ml le volume d'HCl versé.

- *Essai à blanc* :

Dans un erlenmeyer à col rôdé, on introduit 10 ml de KOH 0,1 N (la même que celle des dosages) et 2 ml d'alcool neutralisé ; on porte à ébullition, sous réfrigérant à reflux, 15 minutes puis on dose par HCl 0,1 N, soit N ml le volume d'HCL versé.

4°) Calculs :

- *Graisses hydrolysées* :

Correction du titre de potasse

La constante K utilisée dans le calcul représente le dixième du nombre de ml d'HCl. Le calcul de K nous donne le titre exact de la potasse utilisée :

$$K = \frac{N}{10}$$

où N = nombre de ml d'HCl 0,1 N versé pour le titre de KOH.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en prenant un poids moléculaire moyen de 284 correspondant à celui de l'acide stéarique ($HOOC - (CH_2)_{16} - CH_3$).

La prise d'essai contient donc :

$28,4 \times \frac{70}{25}$ = mg d'acide stéarique soit $0,0284 \times \frac{70}{25} = 0,07952$ g

et n' ml de KOH versé x K x 0,07952 = $A_1$ (g d'acide stéarique dans la prise d'essai).

Le calcul des graisses hydrolysées en équivalents d'acide stéarique, dans le poids total de selles sèches, est donné par la formule :

$$\frac{A_1}{P_1} \times S_1 = A'_1$$

où $P_1$ = poids de selles contenues dans la prise d'essai, $S_1$ = poids total de selles sèches.

Le calcul des graisses hydrolysées en équivalents d'acide stéarique, dans 100 g de selles sèches, est donné par la formule suivante :

$$\frac{A_1}{P_1} \times 100 = A''_1$$

- *Graisses neutres* :

Les résultats sont exprimés en équivalents de tristéarine. La masse moléculaire de la tristéarine étant 890, l'équivalent en gramme est :

$$\frac{890}{3} = 297$$

une solution 0,1 N d'acide stéarique contient 29,7 g.

Dans la prise d'essai nous avons donc :

$29,7 \times \frac{70}{25}$ = mg de tristéarine soit $0,0297 \times \frac{70}{25} = 0,08316$ g

La différence entre l'essai à blanc et la saponification nous donne le nombre de millilitres de KOH consommé :

$$(N - n') = n$$

$$n \times 0,08316 = A_2$$

où $A_2$ = g de tristéarine dans la prise d'essai.

Le calcul des graisses neutres en équivalents de tristéarine, dans le poids total de selles sèches est donné par la formule :

$$\frac{A_2}{P_1} \times S_1 = A'_2$$

Le calcul des graisses neutres en équivalents de tristéarine, dans 100 g de selles sèches est donné par la formule :

$$\frac{A_2}{P_1} \times 100 = A''_2$$

- *Graisses totales* :

Le calcul des graisses totales, en équivalents d'acide stéarique et de tristéarine, dans le poids total de selles sèches est donné par la formule :

$$A'_1 + A'_2 = A'_3$$

Le calcul des graisses totales, en équivalents d'acide stéarique et de tristéarine, dans 100 g de selles sèches est donné par la formule :

$$A''_1 + A''_2 = A''_3$$

*Composition centésimale des graisses excrétées* :

Graisses hydrolysées

Le calcul du pourcentage des graisses hydrolysées est donné par la formule :

$$\frac{A''_1}{A''_3} \times 100 = x\ \%$$

Graisses neutres

Le calcul du pourcentage des graisses neutres est donné par la formule :

$$\frac{A''_2}{A''_3} \times 100 = y\ \%$$

La méthode de MERLAND-COUTHURES ne diffère de celle de VAN DEN KAMER que par le solvant d'extraction (hexane au lieu d'éther de pétrole).

D - Méthode de KUMAGAWA-SUTO

Cette méthode (102) débute par une saponification qui, agissant sur les liaisons esters des mono, di ou triglycérides libère des acides gras libres et les transforme en savons. Une hydrolyse par de l'acide chlorhydrique pur libère les acides gras qui sont extraits, en continu, pendant 9 heures par de l'alcool bouillant dans un appareil de KUMAGAWA. Après évaporation, on reprend par l'éther, on évapore et on termine par une pesée.

E - Méthode de ROUSSELET

Dans cette méthode (143), les lipides sont extraits à chaud pendant 1 h 30, à reflux, par de l'éther éthylique. Ils sont séparés en acides gras, graisses neutres et insaponifiables. Les acides gras sont titrés par acidimétrie, les graisses neutres dosées en mesurant l'excès de potasse utilisé lors de leur saponification ; l'insaponifiable est mesuré par différence.

Enfin, une hydrolyse des savons restant dans la cartouche, suivie d'une extraction par l'éther, permet d'évaluer ceci par titrage ou pesée.

*II - METHODES COMPORTANT UNE EXTRACTION A FROID*

A - Méthode de VAN DEN KAMER (technique A)

Cette technique (163) assure la transition entre les méthodes d'extraction à chaud et à froid. En effet, une ébullition avec de la potasse alcoolique transforme en savons la totalité des graisses neutres et des acides gras. Ils sont ensuite, à froid, libérés des savons par action d'acide chlorhydrique concentré, extraits par l'éther de pétrole, puis dosés par acidimétrie dans une partie aliquote par de la potasse isobutylique en présence de bleu de thymol. Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide stéarique.

B - Méthode de BOWERS

Cette méthode (13) consiste en une extraction des lipides, à froid, à pH 4 par un mélange chloroforme-méthanol (2-1). Elle se termine par une purification par de l'éther de pétrole et une pesée.

C - Méthode de WARTER et METAIS

Cette méthode (120) consiste en une extraction à froid faite en 4 fois, par l'éther éthylique. Le résidu d'évaporation est pesé et l'on peut y doser les acides gras en titrant par la soude 0,1 N. Les savons sont hydrolysés dans le résidu d'extraction par HCl à 30 %. L'agitation, à froid, avec de l'éther permet d'extraire les acides gras libérés. L'éther est lavé avec de l'eau distillée, puis évaporé ; un titrage par la soude permet d'évaluer les acides gras des savons.

Nous avons schématisé, sur les tableaux suivants, les caractéristiques des méthodes que nous venons d'étudier.

*TABLEAU N° III*

*METHODES COMPORTANT UNE EXTRACTION A CHAUD*

<table>
<tr><th>KUMAGAWA DIRECT</th><th>VAN DEN KAMER (technique B)</th><th colspan="2">ROUSSELET</th></tr>
<tr><td>Acidification<br>Déshydratation par l'alcool<br>Extraction à reflux 9 h par l'alcool-éther 1-1<br>Evaporation<br>Reprise par chloroforme<br>Evaporation<br>Pesée</td><td>Hydrolyse des savons<br>Ebullition (1 mn) avec HCl à 2,5 %<br>Extraction à froid par l'éther de pétrole<br>Titrage des acides gras sur aliquote<br>Saponification par KOH isobutylique<br>Titrage de KOH</td><td colspan="2" rowspan="2">Sécher à 100°<br>Extraction à reflux 1 h 30 par l'éther éthylique<br>Evaporation<br>Pesée<br>Reprise par alcool/éther<br>Titrage acides gras<br>Sapon. 10 mn<br>Titrage de KOH non utilisé → G.N.<br>Sur résidu de la cartouche<br>Hydrolyse par HCl à 30 % à 100°<br>Extraction à reflux par éther<br>Pesée ou Titrage → A.G. des savons</td></tr>
<tr><td>KUMAGAWA SUTO</td><td>MERLAND-COUTHURES</td></tr>
<tr><td>Saponification 20'<br>KOH alcool<br>Extraction<br>Reprise par éther<br>Evaporation<br>Pesée</td><td>Hydrolyse des savons<br>Ebullition (1 mn) avec HCl à 2,5 %<br>Extraction à froid par l'hexane<br>Titrage des acides gras sur aliquote<br>Saponification par KOH isobutylique<br>Titrage de KOH</td><td colspan="2"></td></tr>
</table>

Toutes ces méthodes ont l'inconvénient d'entraîner des modifications du degré d'oxydation des lipides.

Dans le tableau n° 4, nous avons schématisé les caractéristiques des méthodes comportant une extraction à froid.

*TABLEAU N° IV*

*METHODES COMPORTANT UNE EXTRACTION A FROID*

| VAN DEN KAMER (technique A) | BOWERS | WARTER |
|---|---|---|
| Saponification (20 mn) par KOH à 33 %<br>Hydrolyse et Extraction à froid par l'éther de pétrole<br>Titrage A.G sur aliquote par KOH isobulique | Extraction à froid par chloroforme-méthanol (2-1)<br>Centrifugation<br>Evaporation<br>Pesée | Extraction à froid par l'éther éthylique<br>Centrifugation<br>Evaporation<br>Pesée<br>→ G.N. + A.G.<br>puis titrage<br>→ A.G. sur résidu d'extraction<br>Hydrolyse par HCl à 30 %<br>Extraction à froid<br>Lavage $H_2O$<br>Evaporation<br>Titrage A.G. des savons |

Ces méthodes ont l'avantage, à l'exception de celle de VAN DEN KAMER, de ne pas entraîner de modifications du degré d'oxydation des lipides ; elles ont, en revanche, l'inconvénient de ne pas donner pleine satisfaction sur la qualité d'extraction.

## *III - CRITIQUE DE CES METHODES*

Les méthodes de KUMAGAWA et KUMAGAWA-SUTO permettent de doser globalement toutes les fractions lipidiques, ce sont les méthodes de référence (61), mais elles sont longues et donnent des résultats un peu faibles, les savons pouvant n'être tranformés qu'en partie. Le très long chauffage (9 h) peut, en outre, modifier divers lipides en agissant notamment sur les doubles liaisons.

Les méthodes de VAN DEN KAMER et MERLAND-COUTHURES sont très intéressantes par leur rapidité (45 mn) et leur reproductibilité. D'autre part, elles ne dosent pas les hydrocarbures de l'huile de paraffine. On peut cependant leur reprocher d'être malodorantes, de doser les acides organiques liposolubles, de ne pas doser l'insaponifiable qui peut représenter de 10 à 60 % des lipides fécaux, d'exprimer les résultats en équivalents d'acide stéarique, lipide fécal quantitativement important mais dont le poids moléculaire peut être très différent d'autres fractions lipidiques existant dans les selles en quantité non négligeable.

Les méthodes de LABBE ou de ROUSSELET permettent de doser l'insaponifiable, mais les selles sont d'abord séchées à 100°C ce qui, outre l'odeur désagréable, a surtout l'inconvénient de modifier fortement les lipides en les oxydant. De plus, l'hydrolyse des savons n'est pas toujours complète.

La méthode de BOWERS est rapide ; elle conserve les lipides dans leur état initial et permet leur fractionnement par chromatographie sur acide silicique. BOWERS sépare, ainsi, les stérols et les esters, les mono et diglycérides, les triglycérides et les acides gras libres, les hydrocarbures et une fraction contenant phospholipides et sels biliaires. Mais il s'agit d'une méthode d'extraction à froid. Or, la centrifugation différentielle (160) a montré que 30 à 50 % des lipides (147) ne sont pas directement extractibles par ce type de méthode : lipides bactériens ou absorbés ou engagés dans des cénapses lipoprotéïques. Autre inconvénient : l'ingestion d'huile de paraffine perturbe le dosage en provoquant une forte augmentation des hydrocarbures.

La méthode de WARTER ET METAIS comporte, comme la précédente, une extraction à froid et comme elle, ne permet que le dosage des lipides libres.

Notons que toutes les méthodes utilisant comme solvant de l'éther présentent un danger d'explosion.

## CONCLUSION

La pathologie de l'assimilation gastro-intestinale des lipides conduit à la stéatorrhée, signe constant et pathognomique qui porte surtout sur les acides gras saturés à longues chaînes.

La concentration des différentes fractions lipidiques fécales varie en fonction des formes étiologiques de la stéatorrhée. L'étude de ces concentrations offre donc, en gastro-entérologie, la possibilité d'une orientation diagnostique rapide.

Les méthodes d'analyse, classiques, utilisées actuellement dans les services de biologie des secteurs public et privé, ne permettent pas, à l'exception de celle de BOWERS, d'apprécier l'importance des différentes fractions lipidiques fécales. Cette dernière méthode n'est pas non plus exempte de critiques puisque, nous l'avons vu, 30 à 50 % des lipides échappent à son dosage.

Ainsi, avec les techniques classiques précédemment décrites, l'analyse des graisses fécales, examen simple et rapide, ne fournit pas, au clinicien, le maximum des informations qu'il serait en droit d'en attendre.

° ° °

# D E U X I E M E  P A R T I E

## TRAVAUX PERSONNELS

*"La difficulté de réussir ne fait qu'ajouter à la nécessité d'entreprendre"*

Beaumarchais : Le barbier de Séville, I, 6.

# INTRODUCTION

Le dosage des lipides fécaux totaux et de leurs différentes fractions, constitue, nous l'avons vu, une étape essentielle dans l'approche diagnostique des formes étiologiques du syndrome de malassimilation.

Notre travail a consisté à imaginer des protocoles permettant d'adapter à ce type d'examen, des techniques d'analyse relativement simples mais surtout plus modernes et plus fines que celles de la coprochimie clinique classique.

Notre recherche a été guidée par deux impératifs : d'une part, essayer de remédier aux inconvénients des méthodes déjà existantes ; d'autre part, trouver un protocole permettant de doser sur le même échantillon l'ensemble des fractions lipidiques et l'eau, paramètres cardinaux de l'analyse des matières fécales.

Les selles, sur lesquelles nous avons travaillé, proviennent, pour la plus grande partie, de malades hospitalisés à l'hôpital Saint-André de Bordeaux, dans le service de clinique des maladies de l'appareil digestif de Monsieur le Professeur DUBARRY.

Il s'agit de selles recueillies pendant trois jours et apportées tous les jours au laboratoire, les précautions d'usage, précédemment exposées, ayant été prises : absence de médication quatres jours avant le prélèvement ; alimentation variée, équilibrée et stabilisée depuis quatre jours ; émission spontanée des selles ; prélèvement indépendamment des urines ; analyse de la selle récemment émise.

Cette partie comportera trois chapîtres consacrés successivement :

- aux méthodes d'extraction des lipides et de l'eau puis au dosage de l'eau ;
- au dosage des différentes fractions lipidiques par chromatographie en couche mince et en phase gazeuse ;
- à quelques éléments de discussion.

° ° °

# CHAPITRE I

## METHODES D'EXTRACTION ;
## DOSAGE DE L'EAU DANS LES MATIERES FECALES

Nous avons expérimenté deux techniques permettant, chacune, d'extraire et de doser, sur le même échantillon, l'eau et l'ensemble des fractions lipidiques fécales.
En effet, d'un point de vue purement analytique, il est important, lors du dosage des lipides fécaux sous régime normal, de pouvoir évaluer, également, sur le même échantillon, le degré d'hydratation fécale, les résultats de l'analyse devant être rapportés au poids de selles sèches (123).

La première de ces méthodes est exécutée à chaud, l'extraction des lipides et de l'eau ainsi que le dosage de cette dernière étant réalisés simultanément par *distillation azéotropique* et *mesure volumétrique*.

La deuxième méthode est exécutée à froid, l'extraction des lipides et de l'eau étant réalisée par l'action combinée d'un mélange solvants et d'ultra-sons ; le dosage de l'eau se faisant par la *méthode électrochimique de KARL FISCHER*.

SECTION I : *Extraction à chaud de l'eau et des lipides ; dosage de l'eau par volumétrie.*

## § I - MATERIEL ET METHODE

### *I - MATERIEL :*

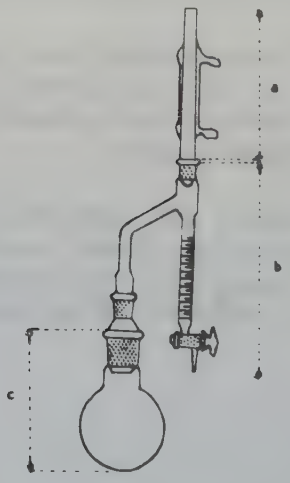
Pour cette technique, nous avons utilisé le matériel suivant :

### A - Appareil de DEAN et STARK :

Il est composé de différents éléments en verre° :

- un ballon (A) de 250 ml (réf. FR 250/35), destiné à recevoir l'échantillon et le solvant de distillation ; ce ballon est muni d'un joint femelle 24/29 ;
- un tube récepteur (B) gradué et muni d'un robinet (rf. W.E. 6/23/10T) ; cet élément est destiné à recevoir l'azéotrope après qu'il ait été distillé et condensé ; la capacité du tube récepteur est de 10 ml ; il est gradué en dixième de millilitres ; il est muni d'un joint femelle 19/26 et d'un joint mâle 24/29 ;
- un réfrigérant (C) (Réf. CX 1/2/25) destiné à condenser l'azéotrope et muni d'un joint mâle 19/26.

*SCHEMA N° 3*
*APPAREIL DE DEAN ET STARK*



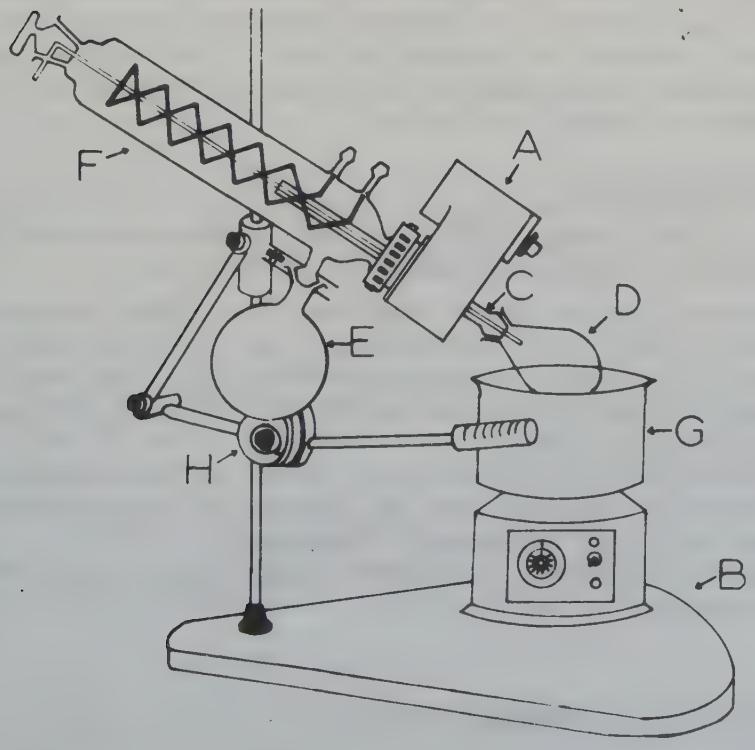
*° QUICKFITT AND QUARTZ LTB, STONE, STAFFORDSHIRE -ENGLAND-*

B - Appareil ROTAVAPOR-R :

Cet appareil° comporte :

- un ensemble d'entraînement (A) (réf. R-1) muni d'une poignée de réglage de l'inclinaison, d'un bouton de réglage de la vitesse de rotation, d'une lampe témoin ;
- un socle en V (B) (Réf. R.S.B. -02) ;
- un tube de conduite de vapeur long (C) (Réf. R-3) ;
- un ballon évaporateur (D) (réf. R.S.B. 4) d'une capacité de 1000 ml, muni d'un rodage normalisé 29/32 ;
- un ballon récepteur de 1000 ml avec rodage sphérique 35/20 (E) (Réf. 5.S.B. 6) ;
- un réfrigérant oblique (F) (Réf. R.8.) muni d'un joint d'étanchéité 35/22/8, d'un orifice de mise en atmosphère et d'une tubulure de prise de vide ;
- un bain-marie Θ 240 mm (G), pour ballon jusqu'à 4 litres, muni d'une plaque universelle (Réf. W-240-K), permettant de maintenir avec précision des températures de travail allant de 20 à 110°C ;
- un élévateur rapide (H) (Réf. R.S.B. A) ;

*SCHEMA N° 4*
*APPAREIL ROTAVAPOR-R*




° *BUCHI, CH-9230-FLAWIL, SUISSE.*

C - Matériel divers :

- verrerie courante ;
- ballons de 100 ml à col muni d'un rodage normalisé 24/29 ;
- réducteur de rodage muni d'un joint femelle 29/32 et d'un joint mâle 24/29 ;
- ampoules à décantation d'une capacité de 200 ml ;
- fiole jaugée de 200 ml ;
- filtres sans graisse.

D - REACTIFS :

- Heptane°
- Solvant de Folch : méthanol-chloroforme (1-2)°
- Chloroforme°
- Solution aqueuse à 9 °/₀₀ de NaCl.

*II - METHODE :*

A - Principe :

Les selles convenablement homogénéisées, si possible, avec un batteur rotatif à lames, sont mises en contact avec un solvant formant un azéotrope avec l'eau. Après distillation et condensation dans un dispositif gradué, la quantité d'eau séparée est mesurée volumétriquement. Les lipides se trouvent en dissolution dans le solvant et sont récupérés après filtration de celui-ci et évaporation à sec d'une partie aliquote du filtrat.

B - Choix du solvant :

Notre choix a été guidé par le fait que nous recherchions un solvant peu dangereux, permettant :

- d'extraire l'ensemble des fractions lipidiques fécales ;
- de former avec l'eau contenue dans les selles un azéotrope minimum, afin que la température de distillation soit suffisamment basse pour qu'aucune des fractions lipidiques ne subisse d'altération ;
- d'extraire, dans ces conditions, l'eau et les lipides fécaux, dans un temps et avec un rendement compatibles avec les impératifs de la biologie clinique ;
- de séparer facilement, une fois l'azéotrope isolé, l'eau du solvant.

° *E. MERCK, A.G., DARMSTAD, R.F.A.*

Nous avons préféré le solvant unique, aux différents mélanges qui s'offraient à nous, car il est beaucoup plus facile de maîtriser un azéotrope binaire qu'un azéotrope ternaire. De plus, dans ce dernier cas, des deux solvants utilisés, il en est souvent un miscible à l'eau.

Pour la compréhension de notre exposé, nous avons résumé ici quelques principes fondamentaux qui nous ont aidé à choisir le solvant.

Un corps pur liquide (A) bout à une température bien déterminée t (A) qui reste fixe pendant toute la durée du phénomène ; la vapeur émise est, à chaque instant, identique au liquide qui bout, du point de vue de sa composition chimique.

Si on refroidit à pression constante la vapeur du corps pur (A), à une certaine température $\Theta$ (A), la vapeur se liquéfie ; $\Theta$ (A) reste fixe, pendant toute la durée du phénomène ; le liquide formé a la même composition que la vapeur.

Si on mélange deux corps purs (A) et (B) dont les températures d'ébullition respectives sont t (A) et t (B) de telle sorte que le rapport soit susceptible dans les expériences successives de varier de 0 à l'infini :

$$P = \frac{\text{masse de (B)}}{\text{masse de (A)}}$$

Ce mélange peut être en phase liquide ou en phase gazeuse sous la pression $P_o$.

Lorsqu'on chauffe la phase liquide, elle commence à bouillir à une température t (C), dite d'*ébullition commençante* qui s'élève sans cesse à mesure que celle-ci se poursuit ; la vapeur produite à chaque instant a une composition différente de celle de la phase liquide.
Lorsqu'on refroidit la phase gazeuse, la première goutte liquide apparaît à une température $\Theta$ (C) dite *point de rosée* ou de *liquéfaction commençante*, qui continue à s'abaisser à mesure que celle-ci se poursuit ; le liquide condensé possède à chaque instant une composition différente de celle de la phase gazeuse.

Dans plusieurs expériences successives, on peut mesurer t (C) et $\Theta$ (C) en fonction de P et faire, en outre, des mesures de composition de la phase qui apparaît.

Traduisons par des graphiques les résultats de ces mesures ; pour éviter des branches de courbe infinies, représentons en abscisse la composition P d'un mélange par un point M tel que :

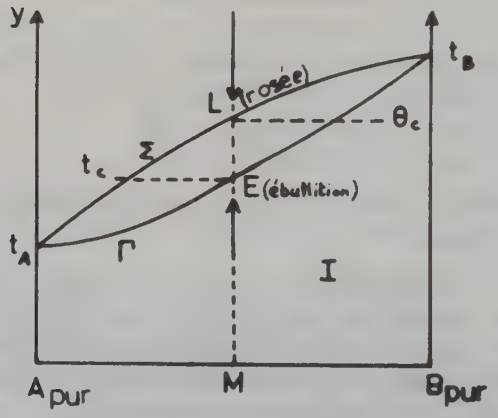
$$P = \frac{MA}{MB}$$

Les points A et B correspondent respectivement aux corps purs A et B.
Portons en ordonnées les températures t (C) et Θ (C) ; (ME = t (C)) : le lieu du point E est une courbe dite *courbe d'ébullition commençante* ; (ML = Θ) : le lieu du point L est une courbe dite *courbe de liquéfaction commençante* ou de *rosée*.

L'expérience montre que l'on peut avoir trois types de graphiques.

*SCHEMA N° 5*

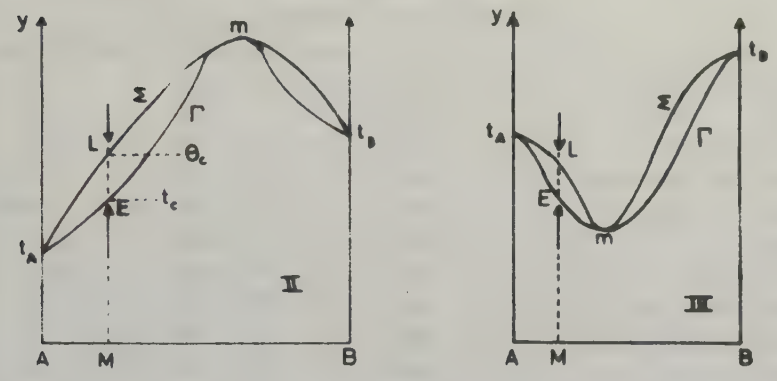
*COURBE N° 1 : CAS GENERAL*




La courbe I correspond au cas général : la température d'ébullition du mélange croît constamment jusqu'au point d'ébullition du corps le moins volatil, quelle que soit la composition de ce mélange.
Dans ce cas, le diagramme d'équilibre entre les deux phases, liquide et vapeur (*courbe de distillation*) a la forme d'un fuseau.

Les courbes II et III correspondent au cas de mélanges azéotropes : mélanges à point d'ébullition constant.

SCHEMA N° 6
COURBES N° II et III : CAS DE MELANGES AZEOTROPES




Pour de tels mélanges, qu'il s'agisse d'ébullition ou de liquéfaction, la température reste fixe pendant toute la durée du phénomène, comme s'il s'agissait d'un corps pur. La composition de la phase qui se forme est exactement la même que celle de la phase qui disparaît ; ces compositions sont donc invariables. Si on distille un azéotrope sous une pression différente de 760 mm de Hg, non seulement sa température de distillation change, comme cela se produit avec un corps pur, mais en plus sa composition varie : c'est ce qui distingue un azéotrope d'un corps pur.

La courbe II correspond à un azéotrope *maximum* dont la température d'ébullition est supérieure à celle des deux composés du mélange binaire ; l'azéotropisme est dit *négatif*.

La courbe III correspond à un azéotrope *minimum* dont la température d'ébullition est inférieure à celle des deux composés du mélange binaire ; l'azéotropisme est dit *positif*.

Nous avons présenté, sur le tableau suivant, une liste de solvants usuels formant, avec l'eau, un azéotrope binaire, la température de distillation de celui-ci et le pourcentage de ses constituants, ceux-ci étant classés par ordre de température croissant de l'azéotrope.

TABLEAU N° V

LISTE DES SOLVANTS USUELS FORMANT UN AZEOTROPE AVEC L'EAU

| SOLVANTS | TEMPERATURE DE DISTILLATION DE L'AZEOTROPE EN DEGRES CENTIGRADES | POURCENTAGE DES CONSTITUANTS DE L'AZEOTROPE | |
|---|---|---|---|
| | | SOLVANT | EAU |
| Ether éthylique | 34 | 99 | 1 |
| Pentane | 35 | 99 | 1 |
| Dichlorométhane | 39 | 98 | 2 |
| Sulfure de carbone | 44 | 98 | 2 |
| Acétate de méthyle | 56 | 95 | 5 |
| Acétone | 56 | 88 | 12 |
| Chloroforme | 56 | 97 | 3 |
| Hexane | 62 | 94 | 6 |
| Tétrachlorure de C | 66 | 96 | 4 |
| Benzène | 69 | 91 | 9 |
| Cyclohexane | 70 | 92 | 8 |
| Acétate d'éthyle | 71 | 92 | 8 |
| Ethyl-méthyl-cétone | 73 | 89 | 11 |
| Trichloroéthylène | 73 | 95 | 5 |
| Acétonitrile | 77 | 84 | 16 |
| Ethanol | 78 | 96 | 4 |
| Heptane | 79 | 87 | 13 |
| Alcool T-butylique | 80 | 88 | 12 |
| Propanol | 80 | 88 | 12 |
| Nitrométhane | 84 | 76 | 24 |
| Toluène | 85 | 80 | 20 |
| Trichloroéthane | 86 | 84 | 16 |
| Butanol-2 | 87 | 73 | 27 |
| Dioxane | 88 | 82 | 18 |
| Propanol-1 | 88 | 72 | 28 |
| Tétrachloroéthylène | 88 | 84 | 16 |
| Alcool i-butylique | 90 | 67 | 33 |
| Octane | 90 | 74 | 26 |
| Butanol-1 | 93 | 57 | 43 |
| Pyridine | 94 | 58 | 42 |
| Nonane | 95 | 60 | 40 |
| Alcool benzylique | 100 | 9 | 91 |
| Acide formique | 100 | 74 | 26 |

Compte tenu des impératifs précédemment cités, nous avons choisi l'*heptane*.
Ce solvant, peu dangereux, permet, en effet, d'extraire l'ensemble des fractions lipidiques fécales ; il forme, avec l'eau des selles, un azéotrope minimum distillant à une température peu élevée (79°C) et contenant 13 % d'eau, pour 87 % d'heptane.

C - Protocole opératoire :

1°) Extraction de l'eau et des lipides :

On homogénéise, avec soin, les selles de 48 ou 72 heures, si possible, avec un batteur rotatif à lames.
On pèse, exactement, une prise d'essais de 5 g, sur un papier filtre sans graisse, le plus petit possible (5 cm sur 5 cm), afin d'éviter l'adsorption des lipides sur la cellulose.
Dans le cas des selles liquides et dans ce cas exclusivement, on peut remplacer le papier filtre par du papier d'aluminium. L'usage de ce dernier doit être proscrit si les selles sont solides, car il apparaît alors des phénomènes de surface qui rendent incomplète l'extraction aussi bien de l'eau que des lipides.
On introduit l'ensemble constitué par les selles et leur contenant dans le ballon (A) de l'appareil de DEAN et STARK.
On ajoute 100 ml d'heptane. Après montage du distillateur selon le schéma n° 1, on procède à une distillation azéotropique de 45 minutes, à la température de 79°C.

L'azéotrope, contenu dans la phase vapeur, se condense au niveau du réfrigérant (C) et est recueilli à l'état liquide dans le tube récepteur (B).

L'heptane et l'eau n'étant pas miscibles, cette dernière, la plus lourde, reste à la partie inférieure du tube récepteur.
Le solvant plus léger, demeure dans la partie supérieure d'où il reflue dans le ballon (A) dès que le récepteur se trouve rempli : on peut, ainsi, utiliser des quantités restreintes d'heptane, ce dernier étant recyclé en permanence.

La composition de l'azéotrope étant, par définition, constante tout au long de la distillation, ce procédé permet, avec l'appareillage utilisé, de déshydrater rapidement l'échantillon de selles. Après 45 minutes de distillation, l'appareil restant monté, on refroidit le ballon (A) dans un bain d'eau froide.

On observe, généralement, une petite quantité d'eau condensée en gouttelettes, sur les parois internes du réfrigérant (C). Afin de la récupérer dans le tube récepteur (B), on branche le réfrigérant sur un robinet d'eau chaude ; on le rince en même temps avec 20 ml d'heptane, ajoutés par petites affusions à la partie supérieure du réfrigérant.

Pour récupérer les lipides contenus en dissolution dans l'heptane, on démonte le ballon (A). On filtre son contenu sur un filtre sans graisse dans une fiole jaugée de 200 ml. On rince le ballon (A) avec 7 x 10 ml d'heptane : à chaque fois, le ballon préalablement bouché, est vigoureusement agité durant 2 minutes, le contenu, préalablement filtré, est également récupéré dans la fiole jaugée de 200 ml.

On ajoute à cette même fiole, l'heptane constituant la phase supérieure du tube récepteur (B) de l'appareil de DEAN et STARK : il contient quelques acides gras volatils passés dans l'azéotrope. On complète la fiole, à l'aide d'heptane, au trait de jauge de 200 ml. On prélève à la pipette jaugée 100 ml de cet extractum ; on les introduit dans un ballon à col rodé de 100 ml. On évapore à sec, sous vide, à la température de 70°C, à l'aide de l'évaporateur rotatif.

On reprend le produit d'évaporation par 100 ml de réactif de FOLCH : méthanol-chloroforme (1-2), mesurés et introduits en 4 fois à la pipette jaugée de 25 ml. A chaque fois, l'extrait lipidique obtenu est versé dans une ampoule à décanter de 200 ml avant l'introduction des 25 ml suivants. Lorsque les 100 ml sont rassemblés dans l'ampoule à décanter, on y ajoute 40 ml d'une solution aqueuse à 9 g °/₀₀ de chlorure de sodium afin d'éliminer les impuretés hydrosolubles. On agite vigoureusement durant une minute ; on laisse décanter ; on recueille la totalité de la phase inférieure (chloroformique) dans un ballon à col rodé de 100 ml. La phase supérieure est traitée par 3 x 10 ml de solvant de FOLCH, afin de récupérer les traces de lipides qui y seraient encore contenues. L'ensemble des phases inférieures est évaporé à sec, sous vide à la température de 50°C, à l'aide de l'évaporateur rotatif. On reprend le produit d'évaporation par 50 ml de chloroforme : on obtient ainsi un extrait pouvant servir au dosage, d'une part, des différentes fractions lipidiques par chromatographie en couche mince et d'autre part, des différentes fractions d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse.

2°) Dosage de l'eau :

En fin de distillation, la totalité de l'eau contenue dans l'échantillon de 5 g de selles se trouve accumulée dans le tube récepteur (B), gradué en dixièmes de millilitres : soit x cette quantité appréciée par lecture directe des graduations à l'interface heptane-eau.

Le pourcentage en eau des selles sera :

$$\frac{X \cdot 100}{5} = \% \text{ en eau des selles}$$

## § II - RESULTATS - DISCUSSION

Nous avons procédé à une étude comparative des résultats, du dosage de l'eau, obtenus, d'une part, par distillation azéotropique et d'autre part, par une méthode classique : séchage sous un rayonnement infra-rouge.

Cette dernière méthode (118) utilise un appareil *Cenco Moisture Balance*° permettant en 30 minutes la pesée et le séchage simultané sous un rayonnement infra-rouge et dans une enceinte close d'un échantillon de selles dont le degré d'hydratation sera fonction de la perte de poids.

Nous avons rapporté, sur les tableaux suivants, un certain nombre de résultats obtenus sur des selles de consistance variable dont six échantillons du même prélèvement ont été dosés, trois par distillation azéotropique, trois par séchage infra-rouge (évaporation).

° *Cenco Instrumenten MIJ. N.V. BREDA The NETHERLANDS.*

Sur le tableau n° 6, nous avons comparé les résultats pour des selles de consistance dure.

*TABLEAU N° VI*
*RESULTATS COMPARATIFS DU DOSAGE DE L'EAU PAR DEUX METHODES : LA DISTILLATION AZEOTROPIQUE ET L'EVAPORATION POUR DES SELLES DE CONSISTANCE DURE*

| NOM DU MALADE | DOSAGE DE L'EAU PAR DISTILLATION AZEOTROPIQUE EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ESSAIS N° | | | | ESSAIS N° | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Moyenne | 1 | 2 | 3 | Moyenne |
| 1 PEK.. | 53 | 51 | 51 | 51 | 53 | 51 | 54 | 53 |
| 2 PUY.. | 51 | 50 | 53 | 51 | 54 | 54 | 53 | 54 |
| 3 PUE.. | 55 | 54 | 56 | 55 | 56 | 56 | 59 | 57 |
| 4 RAB.. | 59 | 57 | 56 | 57 | 59 | 58 | 60 | 59 |
| 5 FIL.. | 72 | 71 | 73 | 72 | 73 | 73 | 72 | 73 |
| 6 FIL.. | 73 | 74 | 72 | 72 | 73 | 73 | 72 | 73 |
| 7 MAL.. | 70 | 72 | 70 | 70 | 72 | 72 | 71 | 72 |
| 8 MON.. | 76 | 72 | 72 | 73 | 73 | 77 | 75 | 75 |
| 9 POU.. | 80 | 78 | 77 | 78 | 79 | 80 | 78 | 79 |
| NOMBRE DE DETERMINATIONS : n | n = 27 | | | | n = 27 | | | |
| MOYENNE : $\bar{x}$ | $\bar{x}$ = 64,74 | | | | $\bar{x}$ = 65,93 | | | |
| ECART STANDARD : s | s = 10,34 | | | | s = 9,84 | | | |

A la lecture de ces résultats, nous constatons que pour des selles dures, la méthode que nous proposons s'avère moins performante que la méthode classique.

Sur le tableau n° 7, nous avons comparé les résultats pour des selles de consistance moulée.

TABLEAU N° VII
RESULTATS COMPARATIFS DU DOSAGE DE L'EAU PAR DEUX METHODES : LA DISTILLATION AZEOTROPIQUE ET L'EVAPORATION POUR DES SELLES DE CONSISTANCE MOULEE

| NOM DU MALADE | DOSAGE DE L'EAU PAR DISTILLATION AZEOTROPIQUE EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ESSAIS N° | | | | ESSAIS N° | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Moyenne | 1 | 2 | 3 | Moyenne |
| 1 BEN.. | 57 | 58 | 60 | 58 | 57 | 59 | 58 | 58 |
| 2 CHO.. | 62 | 62 | 63 | 62 | 65 | 63 | 62 | 63 |
| 3 CHO.. | 62 | 63 | 62 | 62 | 63 | 63 | 65 | 63 |
| 4 THO.. | 68 | 68 | 67 | 68 | 67 | 68 | 68 | 68 |
| 5 BER.. | 68 | 69 | 69 | 69 | 69 | 68 | 70 | 69 |
| 6 MIM.. | 69 | 70 | 68 | 69 | 69 | 70 | 70 | 70 |
| 7 ART.. | 72 | 71 | 72 | 72 | 73 | 73 | 72 | 73 |
| 8 BON.. | 72 | 72 | 73 | 72 | 74 | 72 | 74 | 73 |
| 9 COR.. | 75 | 75 | 74 | 75 | 76 | 77 | 77 | 77 |
| 10 FIL.. | 77 | 76 | 76 | 76 | 77 | 77 | 78 | 77 |
| 11 AME.. | 77 | 77 | 78 | 77 | 78 | 79 | 78 | 78 |
| NOMBRE DE DETERMINATIONS : n | n = 33 | | | | n = 33 | | | |
| MOYENNE : $\bar{x}$ | $\bar{x}$ = 69,15 | | | | $\bar{x}$ = 69,97 | | | |
| ECART STANDARD : s | s = 5,98 | | | | s = 6,33 | | | |

Nous constatons que, dans le cas des selles moulées, les performances de la méthode que nous proposons s'améliorent par rapport aux selles dures.

En particulier, les résulats s'avèrent plus reproductibles pour la méthode de distillation qu'ils ne l'étaient dans le cas précédent. Cependant, la quantité d'eau enregistrée est encore un peu inférieure à celle obtenue par la technique classique, encore que la perte de poids n'est pas due à 100 % à l'eau. En effet, on peut considérer que des substances telles que les acides organiques volatils puissent être évaporées sous l'effet de la forte température, dégagée par les infra-rouges.

Sur le tableau n° 8, nous avons comparé les résultats pour des selles de consistance pâteuse.

*TABLEAU N° VIII*
*RESULTATS COMPARATIFS DU DOSAGE DE L'EAU PAR DEUX METHODES : LA DISTILLATION AZEOTROPIQUE ET L'EVAPORATION POUR DES SELLES DE CONSISTANCE PATEUSE*

| NOM DU MALADE | DOSAGE DE L'EAU PAR DISTILLATION AZEOTROPIQUE EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ESSAIS N° | | | | ESSAIS N° | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Moyenne | 1 | 2 | 3 | Moyenne |
| 1 HER.. | 60 | 59 | 59 | 59 | 60 | 60 | 61 | 60 |
| 2 BOU.. | 69 | 70 | 70 | 70 | 70 | 70 | 71 | 70 |
| 3 LET.. | 72 | 73 | 71 | 72 | 72 | 73 | 72 | 72 |
| 4 DUP.. | 73 | 72 | 72 | 72 | 72 | 73 | 72 | 72 |
| 5 AUD.. | 71 | 70 | 70 | 70 | 70 | 71 | 70 | 70 |
| 6 COR.. | 73 | 72 | 72 | 72 | 72 | 74 | 72 | 72 |
| 7 RIC.. | 73 | 74 | 73 | 73 | 74 | 73 | 73 | 73 |
| 8 ABA.. | 74 | 74 | 73 | 74 | 74 | 74 | 74 | 74 |
| 9 MAL.. | 75 | 75 | 75 | 75 | 74 | 75 | 75 | 75 |
| 10 DUP.. | 75 | 75 | 74 | 75 | 76 | 76 | 75 | 76 |
| 11 LAS.. | 76 | 75 | 76 | 76 | 77 | 76 | 76 | 76 |
| 12 PIC.. | 75 | 75 | 76 | 75 | 75 | 74 | 75 | 75 |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 13 MAR.. | 78 | 79 | 79 | 79 | 79 | 80 | 80 | 80 |
| 14 CON.. | 77 | 77 | 78 | 77 | 77 | 76 | 77 | 77 |
| 15 ERR.. | 79 | 78 | 78 | 78 | 79 | 80 | 79 | 79 |
| 16 CAD.. | 79 | 78 | 79 | 79 | 81 | 80 | 80 | 80 |
| 17 BOU.. | 81 | 82 | 82 | 82 | 83 | 83 | 82 | 83 |
| 18 LAI.. | 80 | 80 | 81 | 80 | 81 | 80 | 81 | 81 |
| 19 VON.. | 82 | 82 | 83 | 82 | 83 | 83 | 84 | 83 |
| 20 AME.. | 84 | 83 | 83 | 83 | 84 | 84 | 83 | 84 |
| 21 ARC.. | 84 | 84 | 85 | 84 | 85 | 85 | 86 | 85 |
| 22 RIC.. | 83 | 83 | 84 | 83 | 85 | 84 | 84 | 84 |
| 23 VAN.. | 87 | 86 | 86 | 86 | 87 | 88 | 87 | 87 |
| 24 VIN.. | 90 | 90 | 89 | 90 | 92 | 91 | 91 | 91 |
| NOMBRE DE DETERMINATIONS : n | | | | | | | | |
| $n = 72$ | | | | | $n = 72$ | | | |
| MOYENNE : $\bar{x}$ | | | | | | | | |
| $\bar{x} = 77,00$ | | | | | $\bar{x} = 77,57$ | | | |
| ECART STANDARD : s | | | | | | | | |
| $s = 6,41$ | | | | | $s = 6,67$ | | | |

Nous constatons que, dans le cas des selles pâteuses, la reproductibilité s'améliore encore par rapport aux cas précédents, pour la méthode que nous proposons et que, si elle dose relativement moins d'eau que la technique classique, ses performances sont encore augmentées.

Sur le tableau n° 9, nous avons comparé les résultats pour des selles très liquides de différentes consistances

TABLEAU N° IX

RESULTATS COMPARATIFS DU DOSAGE DE L'EAU PAR DEUX METHODES : LA DISTILLATION AZEOTROPIQUE ET L'EVAPORATION POUR DES SELLES TRES LIQUIDES DE DIFFERENTES CONSISTANCES

| NOM DU MALADE | CONSISTANCE DE LA SELLE | DOSAGE DE L'EAU PAR DISTILLATION AZEOTROPIQUE EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ESSAIS N° | | | | ESSAIS N° | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | Moyenne | 1 | 2 | 3 | Moyenne |
| 1 GEN. | MOUSSEUSE | 74 | 75 | 75 | 75 | 75 | 74 | 75 | 75 |
| 2 JER. | MOUSSEUSE | 78 | 78 | 79 | 78 | 77 | 78 | 78 | 78 |
| 3 BOY. | MOUSSEUSE | 80 | 79 | 80 | 80 | 80 | 80 | 79 | 80 |
| 4 APP. | MOUSSEUSE | 84 | 83 | 83 | 83 | 85 | 83 | 82 | 83 |
| 5 GRA. | AQUEUSE | 86 | 86 | 86 | 86 | 84 | 88 | 88 | 86 |
| 6 GRA.. | MUQUEUSE | 88 | 91 | 89 | 89 | 89 | 92 | 90 | 90 |
| NOMBRE DE DETERMINATIONS : n | | n = 18 | | | | n = 18 | | | |
| MOYENNE : $\bar{x}$ | | $\bar{x}$ = 81,89 | | | | $\bar{x}$ = 82,05 | | | |
| ECART STANDARD : s | | s = 5,09 | | | | s = 5,61 | | | |

Nous constatons que, dans le cas de selles très liquides, la technique proposée donne des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus par la méthode classique.

L'ensemble de cette étude nous permet de procéder à un certain nombre d'observations. Tout d'abord, nous constatons que la méthode proposée donne des résultats, en moyenne, un peu plus faibles que ceux obtenus par évaporation et cela quelle que soit la consistance de la selle. Cependant, la quantité d'eau dosée par notre méthode se rapproche de celle obtenue par la méthode classique d'autant plus que la selle est plus liquide. De même notre technique s'avère plus reproductible pour des selles de consistance moyenne, mais moins reproductible pour des selles dures.

Pour ce qui est de la précision du dosage, par distillation azéotropique, elle dépend essentiellement de celle du tube récepteur gradué.
C'est un procédé de rapidité moyenne (45 minutes) qui permet d'utiliser des quantités restreintes de solvant, ce dernier étant recyclé en permanence. Cette technique apporte, sur celles déjà existantes, deux avantages : celui d'être réalisé en vase clos, ce qui évite la libération, dans l'atmosphère, des substances volatiles malodorantes ; mais surtout, la possibilité d'une extraction simultanée des lipides fécaux. Cependant, le fait que cette extraction soit réalisée à chaud (79°C) constitue un inconvénient dans la mesure où, à cause du chauffage, les lipides peuvent, par des phénomènes d'oxydoréduction, subir une modification au niveau des liaisons.

Toutes ces raisons nous ont amené à expérimenter une autre méthode, exécutée à froid, dans laquelle l'extraction des lipides et de l'eau est réalisée par l'action combinée d'un mélange solvants et d'ultra-sons, le dosage de l'eau se faisant par la méthode électrochimique de KARL FISCHER.

SECTION II : *Extraction à froid de l'eau et des lipides ; dosage de l'eau par ampérométrie.*

## § I - MATERIEL ET METHODE

### *I - MATERIEL :*

- Titrimètre semi-automatique de KARL FISCHER : nous avons utilisé, pour ces déterminations, le titrimètre semi-automatique de KARL FISCHER E 547/1[4].
Il est équipé d'une burette manuelle pour l'introduction du réactif de KARL FISCHER dans la cellule de mesure et d'une burette mécanique qui assure l'addition automatique du méthanol hydraté. L'arrêt de cette dernière est commandé électroniquement lorsque la réaction est terminée, son terme est détecté au moyen d'une électrode double de platine plongeant dans la solution. Les différents volumes de réactifs ajoutés sont repérés grâce à un compteur volumétrique gradué en centièmes de millilitre. Dans chaque cas, le remplissage et le refoulement du liquide sont assurés par un piston en téflon, se déplaçant à l'intérieur d'un cylindre de verre calibré.
Les flacons de réactifs, en verre brun afin de les protéger des influences de la lumière, sont surmontés d'une colonne destinée à recevoir un agent desséchant (Sikkon ou réactif de KARL FISCHER) assurant une protection efficace contre l'humidité atmosphérique, ce qui permet de maintenir un titre constant.

Nous utilisons un vase réactionnel un peu particulier, comportant sur sa paroi latérale un orifice à rodage normalisé, permettant d'introduire des substances solides à l'aide d'une cuillère prévue à cet effet.
Ce récipient s'emboîte sous une unité fixe, sur laquelle viennent s'adapter l'électrode de mesure, les tubulures permettant l'introduction des réactifs et enfin, une colonne contenant un agent desséchant. Le mélange des divers réactifs est effectué au moyen d'un agitateur magnétique.

- Aerograph ultra-sonic cleaner : le terme "ultra-sons" est utilisé pour définir une onde vibratoire d'une fréquence supérieure aux limites perceptibles par l'oreille humaine et qui se situe au-delà de 16 kilo Hertz (KHZ).

[4] *METHROHM AG CH-9100 HERISAU-SWITZERLAND.*

Des limitations d'ordre pratique imposent un maximum aux alentours de 500 Mega Hertz (MHZ).
De tous les phénomènes, associés au passage d'une onde accoustique intense à travers un liquide, celui de la "cavitation" est le plus connu. On sait, en effet, qu'il est possible de produire, dans un liquide, des cavités remplies de gaz ou de vapeur d'une dimension variant d'une taille submicroscopique à des diamètres appréciables. La production de ces cavités et l'effet qu'elles exercent sur le milieu dans lequel elles prennent naissance s'appellent "cavitation".
Il existe deux types principaux de bulles de cavitation : le premier de taille visible, contient un gaz tel que l'air préalablement dissout dans le liquide ; le second de dimension beaucoup plus petite contient la vapeur du liquide dans lequel se produit la cavitation.

La fragmentation des surfaces solides immergées dans un faisceau d'ultra-sons est due essentiellement aux bulles les plus petites. Celles-ci sont d'autant plus nombreuses que la fréquence des ondes émises est plus faible, les fréquences optima étant situées entre 20 et 30 KHZ.
Le mécanisme de cette fragmentation a été étudié par POULTER° : elle est due au fait que le liquide est chassé par la pression dans les pores du matériau et s'en échappe ensuite en entraînant de petites particules.

Nous avons utilisé, pour nos travaux, l'Aeorograph Ultrasonic Cleaner°°, transducteur électrostrictif au zirconate de titanium, émettant des ondes ultra-sons de 25 KHZ de fréquence.

Nous avons déterminé de façon empirique, le temps de contact de l'échantillon de selles ainsi que la durée d'action des ultra-sons susceptibles de donner une extraction optimum aussi bien de l'eau que des lipides fécaux.
Le protocole le plus satisfaisant est celui où le mélange solvants-selles est soumis à un traitement aux ultra-sons d'une durée de trente minutes suivi d'un temps de repos de vingt quatre heures et d'un deuxième traitement aux ultra-sons d'une durée identique à la première. On obtient, ainsi, une émulsion homogène dont il suffit de prendre une aliquote pour effectuer le dosage de l'eau, la suspension des selles obtenue étant introduite dans la cellule de mesure sans autre traitement.

° *POULTER T.C. : FRONTIER 10/2 (1947) 7*
°° *Distribued by VARIAN AEROGRAPH, Walnut Creek, CALIFORNIA.*

Pour le dosage des lipides, le solvant est préalablement séparé des particules en suspension par filtration, puis évaporé à basse température.

- Matériel divers :

  - Verrerie courante ;
  - Ballons de 250 ml à col muni d'un rodage normalisé...
  - Réducteur de rodage muni d'un joint femelle 29/32 et d'un joint mâle... ;
  - Ampoules à décantation d'une capacité de 250 ml ;
  - Filtre sans graisse.

- Réactifs :

  - chloroforme-méthanol (1-2) ;
  - réactif de Karl Fischer ;
  - tartrate de sodium à 15,66 % d'eau ;
  - chlorure de sodium à 9 °/₀₀ ;

## II - METHODE :

### A - Principe

Une aliquote de matières fécales est traitée par un mélange de solvants organiques qui va absorber la totalité de l'eau imbibant les échantillons. La suspension de selles obtenue est placée dans la cellule de mesure de l'appareil de KARL FISCHER et le réactif est additionné jusqu'à la fin de la réaction. Le mélange solvant est choisi de telle manière que tous les lipides contenus dans les matières fécales puissent être aussi solubilisés au cours de la même opération. Le dosage des lipides totaux pourra être réalisé sur une aliquote de la suspension obtenue, de même que le dosage des diverses fractions : acides gras libres, triglycérides, phospholipides, cholestérol libre et estérifié par chromatographie en couche mince.

### B - Choix du solvant

#### 1°) Emploi du réactif de KARL FISCHER :

Une série de travaux a été réalisée en vue de déterminer la composition du mélange solvant le plus approprié pour réaliser le dosage.

Dans une première série d'expériences, nous avons placé une fraction de matières fécales directement dans le vase réactionnel, au contact du réactif de KARL FISCHER, composé de pyridine, d'iode et d'anhydride sulfureux ; nous en avons dosé l'excès en retour.

Cette méthode est conseillée par certains auteurs pour le dosage de l'eau dans différents produits solides. Trois échantillons d'un poids compris entre 15 et 20 mg ont été prélevés successivement sur chaque selle.
Les résultats obtenus ont été rassemblés sur le tableau n° 10.

*TABLEAU N° X*
*TABLEAU REPRESENTATIF DES RESULTATS DU DOSAGE DE L'EAU EXTRAITE DIRECTEMENT DES SELLES PAR LE REACTIF DE KARL FISCHER*

| N° | CONSISTANCE DE LA SELLE | DOSAGE DE L'EAU PAR KARL FISCHER EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ESSAIS N° | | | Moyenne | |
| | | 1 | 2 | 3 | | |
| 1 | DURE | 62,1 | 59,7 | 67,4 | 63,3 | 76 |
| 2 | PATEUSE | 65,8 | 71,3 | 66,1 | 67,7 | 75 |
| 3 | PATEUSE | 78,2 | 77,3 | 68,7 | 74,7 | 75 |
| 4 | PATEUSE | 68,9 | 60,1 | 100,0 | 76,3 | 76 |
| 5 | PATEUSE | 89,2 | 71,3 | 75,7 | 78,7 | 77 |
| 6 | PATEUSE | 76,1 | 74,8 | 68,4 | 73,1 | 78 |
| 7 | PATEUSE | 77,5 | 76,2 | 83,6 | 79,1 | 79 |
| 8 | MOUSSEUSE | 93,5 | 78,1 | 71,9 | 81,1 | 87 |
| 9 | MOUSSEUSE | 96,3 | 84,8 | 94,2 | 91,7 | 87 |
| 10 | LIQUIDE | 77,6 | 77,1 | 66,5 | 73,7 | 88 |
| 11 | LIQUIDE | 92,6 | 78,9 | 77,6 | 83,0 | 90 |

Les chiffres de ce tableau montrent que la méthode classique de KARL FISCHER n'est pas reproductible, elle peut même conduire à des résultats abérrants (poids de l'eau contenue dans l'échantillon supérieur à la prise d'essai).

Les variations observées peuvent avoir plusieures origines :

- une fraction non négligeable du réactif de KARL FISCHER est consommée pour une réaction chimique différente de celle du dosage de l'eau ;
- des erreurs sont possibles au niveau de la pesée, de très faibles quantités de substances devant être prélevées ;
- enfin, les matières fécales ne sont pas homogènes.

Si l'on considère les valeurs moyennes, on remarque que les résultats les plus proches de la méthode par évaporation ont été obtenus pour des selles pâteuses, c'est-à-dire pour celles qui sont en principe les plus homogènes et où l'eau est le plus facilement accessible par les réactifs. Les plus grandes différences (toujours par défaut) ont été relevées pour les selles liquides : ces écarts semblent essentiellement dus à une évaporation survenant durant le temps nécessaire au prélèvement et la pesée. En ce qui concerne les selles dures, les mêmes erreurs ont été observées, ceci paraît provenir du fait que toute l'eau n'a pu passer en solution, en raison même de la nature du matériau. Il serait possible de diminuer les erreurs expérimentales en analysant une prise d'essai d'un poids nettement plus élevé. Mais, étant donné la richesse en eau des matières fécales (entre 70 et 90 %), cela conduirait à augmenter dans des proportions trop importantes, le volume du réactif de KARL FISCHER, ce qui serait incompatible avec la grandeur du vase réactionnel et la simplicité de la méthode.

2°) Emploi du mélange chloroforme-méthanol :

L'impossibilité de réaliser un dosage direct reproductible, nous a conduit à opérer une dilution de la selle dans un mélange solvant.

Notre but étant d'extraire dans une même opération, l'eau et les lipides fécaux, nous avons choisi le mélange de FOLCH (45) (méthanol-chloroforme 1-2). En effet, le méthanol est un déshydratant efficace qui permet, à la fois d'extraire l'eau et de favoriser la rupture des cenapses lipido-protéiques. Le chloroforme est un excellent solvant pour l'ensemble des fractions lipidiques fécales.

Ce mode opératoire possède les avantages suivants :

- l'augmentation de la prise d'essai : il devient, en effet, possible de travailler sur des échantillons de 500 mg au lieu de 15 ou 20 mg, ce qui conduit à une meilleure précision dans la pesée. Il suffit alors de prélever 10 % du volume de la dispersion pour obtenir un dosage précis, sans consommation exagérée de réactif de KARL FISCHER, même pour des selles très liquides ;
- le dosage des diverses fractions lipidiques fécales dans une autre aliquote de la dispersion des selles.

Cependant, des essais préliminaires nous ont indiqué que le rendement de l'extraction, aussi bien de l'eau que des lipides dépendait de la consistance de la matière fécale et de sa tendance à la fragmentation.

## C - Protocole opératoire

### 1°) Extraction de l'eau et des lipides :

Les selles de 48 à 72 heures sont homogénéisées avec soin, si possible, avec un batteur rotatif à lames. On prélève 500 mg de ces matières fécales qu'on introduit dans un ballon de 250 ml, bouché émeri contenant 100 ml de solvant de FOLCH (45). Cette préparation est soumise aux ultra-sons pendant 30 mn. Après 24 h de contact, le prélèvement est, à nouveau, soumis aux ultra-sons pendant 30 mn.

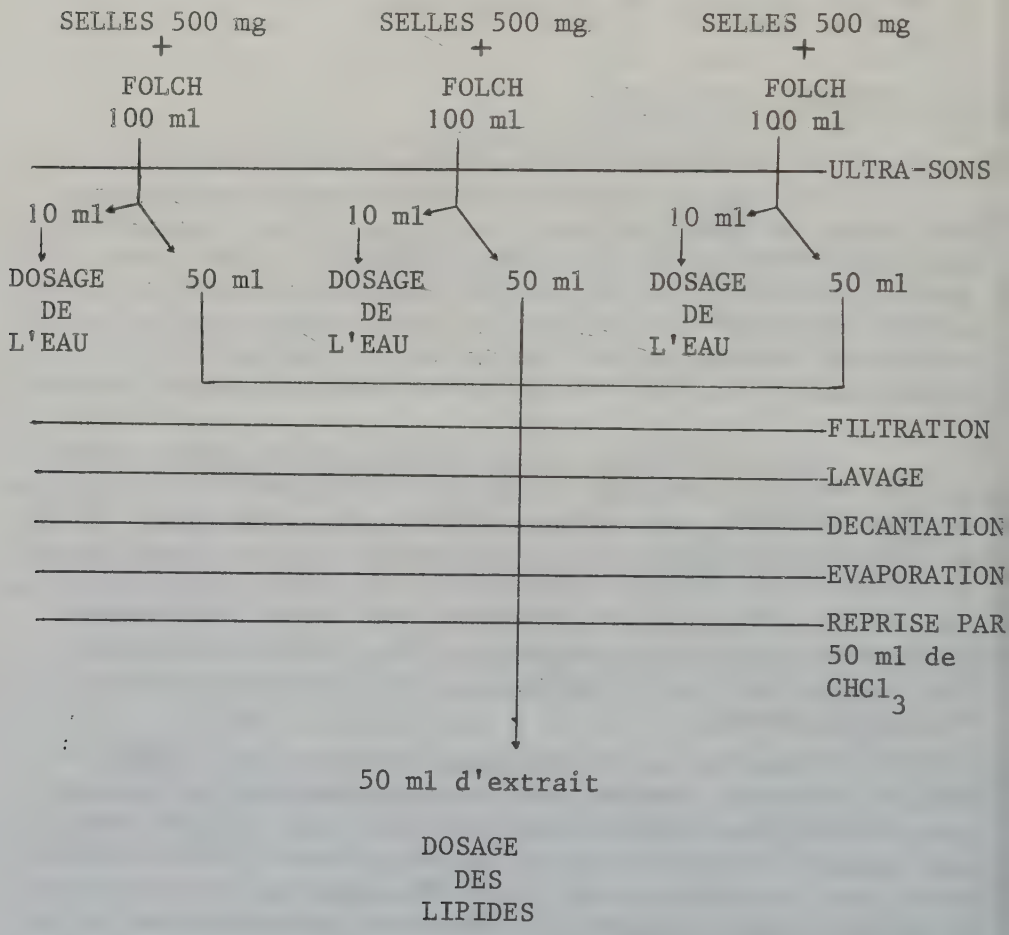
La suspension, ainsi obtenue est utilisée telle quelle pour le dosage de l'eau par la méthode électrochimique de KARL FISCHER. Nous avons constaté que, pour avoir des résultats reproductibles, il était utile, surtout dans le cas de selles très denses ou muqueuses, de travailler, compte tenu de la précision de la mesure, sur trois prélèvements différents et de faire la moyenne des résultats obtenus. Nous avons, pour notre travail, procédé de cette manière systématiquement.

Dans le but d'un dosage ultérieur des lipides fécaux, 50 ml de chacune des trois suspensions précédentes, soit 150 ml sont filtrés sur un filtre sans graisse dans une ampoule à décanter de 250 ml de capacité. Le filtre est rincé par 30 ml de solvant de FOLCH, ajoutés en trois fois. On ajoute, pour éliminer les impuretés hydrosolubles, 60 ml d'une solution aqueuse à 9 °/₀₀ de chlorure de sodium.

Après agitation et décantation, on récupère dans un ballon à col rodé, de 250 ml de capacité, la totalité de la phase inférieure chloroformique. La phase supérieure est traitée par 3 x 15 ml de solvant de FOLCH afin de récupérer les traces de lipides qui y seraient encore contenues. L'ensemble des phases inférieures est évaporé à sec, sous vide, à l'évaporateur rotatif et repris par 50 ml de chloroforme. On obtient ainsi 50 ml d'extrait qui serviront au dosage ultérieur des lipides.

Nous avons représenté, sur le schéma suivant, l'ensemble des opérations de cette phase d'extraction.

*SCHEMA N° 7*
*REPRESENTATION DES DIFFERENTES PHASES D'EXTRACTION*



## 2°) Dosage de l'eau :

### *a) Etalonnage de l'appareil de KARL FISCHER :*

Cet étalonnage consiste, d'abord à établir l'équivalence en eau du méthanol hydraté par rapport au réactif de KARL FISCHER. Leurs volumes respectifs sont déterminés selon les règles suivantes : le volume de réactif de KARL FISCHER utilisé doit être tel que la quantité de méthanol hydraté nécessaire pour le neutraliser soit au moins égale à 5 ml pour que les résultats soient reproductibles ; pour la même raison, la cellule de mesure doit être remplie à moitié ; l'agitation doit être suffisante pour une bonne homogénéisation, mais pas trop importante pour éviter la présence de bulles au niveau des électrodes. A l'aide de la burette manuelle, on introduit dans la cellule de mesure de l'appareil, un volume déterminé de réactif de KARL FISCHER ($K_1$ ml) soit environ 10 ml. Ce volume sera neutralisé par une quantité équivalente d'eau contenue dans le méthanol hydraté à 1 %, délivré par la burette automatique, dont l'arrêt est commandé électroniquement au terme de la réaction. Le titre du réactif de KARL FISCHER est vérifié chaque jour avec une quantité de tartrate de sodium° : ($C_4H_4Na_2O_6$, $2H_2O$ à 15,66 % d'$H_2O$) dont la teneur en eau est constante.

Un poids déterminé de tartrate (environ 100 mg) est introduit dans la cellule de mesure de l'appareil soit (a mg) cette quantité. A l'aide de la burette manuelle, on ajoute un excès du réactif de KARL FISCHER ($K_2$ ml), en général 15 ml. L'excès de KARL FISCHER n'ayant pas réagi avec le tartrate est dosé en retour par le méthanol hydraté : soit ($m_2$ ml) le volume de méthanol utilisé. Le titre de KARL FISCHER sera déduit de ces mesures.

### *b) Dosage de l'eau dans les selles :*

On introduit dans la cellule de mesure ($S_2$ml), en général 10 ml de la suspension obtenue après traitement aux ultra-sons. L'agitation magnétique étant réglée à une vitesse convenable, on ajoute ($K_3$ ml) de réactif de KARL FISCHER dont l'excès est dosé en retour par le méthanol hydraté, soit ($m_3$ ml) le volume de méthanol hydraté utilisé.

Le pourcentage en eau de la selle est obtenu par calcul.

c) *Calcul* :

Le pourcentage de l'eau dans les selles est calculé par la formule suivante :

$$\frac{a \times 15,66}{P} \cdot \frac{S_1}{S_2} \cdot \frac{m_1 K_3 - m_3 K_1}{m_1 K_2 - m_2 K_1} = \% \text{ en eau des selles}$$

où :

a = poids en mg du tartrate de sodium utilisé par l'étalonnage du réactif de KARL FISCHER.

15,66 = pourcentage en eau du tartrate de sodium.

P = poids en mg des selles utilisées pour le dosage.

$S_1$ = volume en ml du solvant dans lequel les selles sont introduites dans la cellule de mesure.

$S_2$ = volume en ml de la suspension de selles introduite dans la cellule de mesure.

$K_1$ = volume en ml du réactif de KARL FISCHER.

$m_1$ = volume en ml de méthanol hydraté, nécessaire à la neutralisation du volume d'eau contenue dans le tartrate de sodium.

$K_2$ = volume en ml de KARL FISCHER utilisé lors de la neutralisation du volume d'eau contenue dans le tartrate de sodium.

$m_2$ = volume en ml de méthanol hydraté nécessaire à la neutralisation de l'excès du volume $K_2$ de KARL FISCHER n'ayant pas réagi avec le tartrate de sodium.

$K_3$ = volume en ml de KARL FISCHER utilisé lors de la neutralisation de la suspension de selles.

$m_3$ = volume en ml du méthanol hydraté nécessaire à la neutralisation de l'excès du volume $K_3$ de KARL FISCHER n'ayant pas réagi avec l'eau de la suspension de selles.

## § II - RESULTATS-DISCUSSION

Nous avons procédé à une étude comparative des résultats de dosage de l'eau obtenus, d'une part avec la méthode de KARL FISCHER, d'autre part avec la méthode classique par évaporation, déjà décrite à propos de la distillation azéotropique. Nous avons rapporté, sur les tableaux suivants, un certain nombre de résultats obtenus sur des selles de consistance variable, dont six échantillons du même prélèvement ont été dosés, trois par la méthode de KARL FISCHER, trois par évaporation.

*TABLEAU N° XI*

*RESULTATS COMPARATIFS DU DOSAGE DE L'EAU PAR DEUX METHODES : LA METHODE ELECTROCHIMIQUE DE KARL FISCHER ET L'EVAPORATION POUR DES SELLES DE CONSISTANCE DURE*

| NOM DU MALADE | DOSAGE DE L'EAU PAR LA METHODE ELECTROCHIMIQUE DE KARL FISCHER EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ESSAIS N° | | | | ESSAIS N° | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Moyenne | 1 | 2 | 3 | Moyenne |
| 1 FEK.. | 52,46 | 52,19 | 51,60 | 52,08 | 53 | 51 | 54 | 53 |
| 2 PUY.. | 54,05 | 52,79 | 52,92 | 53,25 | 54 | 54 | 53 | 54 |
| 3 PUE.. | 57,82 | 57,33 | 59,52 | 58,22 | 56 | 56 | 59 | 57 |
| 4 RAB.. | 63,13 | 63,00 | 64,26 | 63,46 | 59 | 58 | 60 | 59 |
| 5 FIL.. | 68,75 | 70,21 | 70,36 | 69,77 | 73 | 73 | 72 | 73 |
| 6 FIL.. | 71,82 | 71,23 | 72,10 | 71,71 | 73 | 73 | 72 | 73 |
| 7 MAL.. | 73,92 | 72,67 | 72,77 | 73,12 | 72 | 72 | 71 | 72 |
| 8 MON.. | 76,77 | 76,64 | 77,90 | 77,10 | 73 | 77 | 75 | 75 |
| 9 FOU.. | 76,88 | 77,98 | 76,75 | 77,20 | 79 | 80 | 78 | 79 |
| NOMBRE DE DETERMINATIONS : n | | | | | | | | |
| n = 27 | | | | | n = 27 | | | |
| MOYENNE : $\bar{x}$ | | | | | | | | |
| $\bar{x}$ = 66,21 | | | | | $\bar{x}$ = 65,93 | | | |
| ECART STANDARD : s | | | | | | | | |
| s = 9,44 | | | | | s = 9,84 | | | |

TABLEAU N° XII

RESULTATS COMPARATIFS DU DOSAGE DE L'EAU PAR DEUX METHODES : LA METHODE ELECTROCHIMIQUE DE KARL FISCHER ET L'EVAPORATION POUR DES SELLES DE CONSISTANCE MOULEE

| NOM DU MALADE | DOSAGE DE L'EAU PAR LA METHODE ELECTROCHIMIQUE DE KARL FISCHER EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ESSAIS N° | | | | ESSAIS N° | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Moyenne | 1 | 2 | 3 | Moyenne |
| 1 BEN.. | 62,18 | 62,05 | 63,28 | 62,50 | 57 | 59 | 58 | 58 |
| 2 CHO.. | 64,79 | 66,07 | 64,89 | 65,25 | 65 | 63 | 62 | 63 |
| 3 CHO.. | 65,31 | 66,29 | 65,12 | 65,57 | 63 | 63 | 65 | 63 |
| 4 THO.. | 68,83 | 68,70 | 69,93 | 69,15 | 67 | 68 | 68 | 68 |
| 5 BER.. | 70,62 | 70,87 | 70,72 | 70,07 | 69 | 68 | 70 | 69 |
| 6 MIM.. | 70,56 | 71,54 | 70,37 | 70,82 | 69 | 70 | 70 | 70 |
| 7 ART.. | 71,35 | 71,84 | 73,51 | 72,23 | 73 | 73 | 72 | 73 |
| 8 BON.. | 73,00 | 74,21 | 74,10 | 73,77 | 74 | 72 | 74 | 73 |
| 9 COR.. | 74,75 | 74,85 | 76,00 | 75,20 | 76 | 77 | 77 | 77 |
| 10 FIL.. | 78,23 | 78,15 | 79,37 | 78,58 | 77 | 77 | 78 | 77 |
| 11 AME.. | 78,34 | 79,32 | 78,15 | 78,60 | 78 | 79 | 78 | 78 |
| NOMBRE DE DETERMINATIONS : n | $n = 33$ | | | | $n = 33$ | | | |
| MOYENNE : $\bar{x}$ | $\bar{x} = 71,13$ | | | | $\bar{x} = 69,97$ | | | |
| ECART STANDARD : s | $s = 5,16$ | | | | $s = 6,33$ | | | |

## TABLEAU N° XIII

## RESULTATS COMPARATIFS DU DOSAGE DE L'EAU PAR DEUX METHODES : LA METHODE ELECTROCHIMIQUE DE KARL FISCHER ET L'EVAPORATION POUR DES SELLES DE CONSISTANCE PATEUSE

| NOM DU MALADE | DOSAGE DE L'EAU PAR LA METHODE ELECTROCHIMIQUE DE KARL FISCHER EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ESSAIS N° | | | | ESSAIS N° | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Moyenne | 1 | 2 | 3 | Moyenne |
| 1 HER.. | 64,77 | 63,54 | 63,67 | 63,99 | 60 | 60 | 61 | 60 |
| 2 BOU.. | 71,71 | 72,88 | 71,90 | 72,16 | 70 | 70 | 71 | 70 |
| 3 LET.. | 72,69 | 72,56 | 73,82 | 73,02 | 72 | 73 | 72 | 72 |
| 4 DUP.. | 73,84 | 72,56 | 72,66 | 73,02 | 72 | 73 | 72 | 72 |
| 5 AUD.. | 73,98 | 75,43 | 75,58 | 75,00 | 70 | 71 | 70 | 70 |
| 6 GOR.. | 77,29 | 75,60 | 75,10 | 75,99 | 72 | 74 | 72 | 72 |
| 7 RIC.. | 77,47 | 75,77 | 75,28 | 76,17 | 74 | 73 | 73 | 73 |
| 8 ABA.. | 76,65 | 76,38 | 75,80 | 76,28 | 74 | 74 | 74 | 74 |
| 9 MAL.. | 76,69 | 76,42 | 75,83 | 76,31 | 74 | 75 | 75 | 75 |
| 10 DUP.. | 77,65 | 75,95 | 75,46 | 76,35 | 76 | 76 | 75 | 76 |
| 11 LAS.. | 77,38 | 78,50 | 76,28 | 77,39 | 77 | 76 | 76 | 76 |
| 12 PIC.. | 77,98 | 78,93 | 77,79 | 78,23 | 75 | 74 | 75 | 75 |
| 13 MAR.. | 77,46 | 78,86 | 79,01 | 78,43 | 79 | 80 | 80 | 80 |
| 14 CON.. | 80,67 | 79,49 | 79,39 | 79,85 | 77 | 76 | 77 | 77 |
| 15 ERR.. | 80,20 | 80,01 | 81,15 | 80,45 | 79 | 80 | 79 | 79 |
| 16 CAD.. | 80,62 | 80,49 | 81,75 | 80,95 | 81 | 80 | 80 | 80 |
| 17 BON.. | 81,98 | 81,85 | 83,08 | 83,20 | 83 | 83 | 82 | 83 |
| 18 LAI.. | 83,92 | 82,64 | 82,74 | 83,10 | 81 | 80 | 81 | 81 |
| 19 VOM.. | 85,18 | 83,90 | 84,00 | 84,36 | 83 | 83 | 84 | 83 |
| 20 AME.. | 85,77 | 85,64 | 86,90 | 86,10 | 84 | 84 | 83 | 84 |
| 21 ARC.. | 87,42 | 85,75 | 85,26 | 86,14 | 85 | 85 | 86 | 85 |
| 22 RIC.. | 86,21 | 86,70 | 88,40 | 87,10 | 85 | 84 | 84 | 84 |
| 23 VAN.. | 87,86 | 89,00 | 88,05 | 88,30 | 87 | 88 | 87 | 87 |
| 24 VIN.. | 90,06 | 91,04 | 89,87 | 90,32 | 92 | 91 | 91 | 91 |
| NOMBRE DE DETERMINATIONS : n | n = 72 | | | | n = 72 | | | |
| MOYENNE : $\bar{X}$ | $\bar{x}$ = 79,22 | | | | $\bar{x}$ = 77,57 | | | |
| ECART STANDARD : s | s = 6,01 | | | | s = 6,67 | | | |

*TABLEAU N° XIV*

*RESULTATS COMPARATIFS DU DOSAGE DE L'EAU PAR DEUX METHODES : LA METHODE ELECTROCHIMIQUE DE KARL FISCHER ET L'EVAPORATION POUR DES SELLES DE DIFFERENTES CONSISTANCES*

| NOM DU MALADE | CONSISTANCE DE LA SELLE | DOSAGE DE L'EAU PAR LA METHODE ELECTROCHIMIQUE DE KARL FISCHER EN % | | | | DOSAGE DE L'EAU PAR EVAPORATION EN % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ESSAIS N° | | | | ESSAIS N° | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | Moyen. | 1 | 2 | 3 | Moyen. |
| 1 GEN. | MOUSSEUSE | 77,49 | 75,82 | 75,33 | 76,21 | 75 | 74 | 73 | 75 |
| 2 SER. | MOUSSEUSE | 79,64 | 78,46 | 78,36 | 78,82 | 77 | 78 | 78 | 78 |
| 3 BOY. | MOUSSEUSE | 81,32 | 81,19 | 82,45 | 81,65 | 80 | 80 | 79 | 80 |
| 4 APP. | MOUSSEUSE | 84,95 | 85,10 | 83,50 | 84,51 | 85 | 83 | 82 | 83 |
| 5 GRA. | AQUEUSE | 88,20 | 88,07 | 88,27 | 88,18 | 84 | 88 | 88 | 86 |
| 6 GAS. | MUQUEUSE | 87,00 | 89,40 | 89,27 | 88,55 | 89 | 92 | 90 | 90 |
| NOMBRE DE DETERMINATIONS = n | | n = 18 | | | | n = 18 | | | |
| MOYENNE = $\bar{x}$ | | $\bar{x}$ = 82,99 | | | | $\bar{x}$ = 82,05 | | | |
| ECART STANDARD = s | | s = 4,76 | | | | s = 5,61 | | | |

De cette étude, il ressort que, des deux techniques, la méthode proposée est la plus performante, quelle que soit la consistance de la selle ; elle est aussi plus reproductible. Enfin, la méthode de dosage par KARL FISCHER est beaucoup plus précise que celle par évaporation, ce qui explique que les calculs permettant d'obtenir les résultats soient poussés jusqu'à la deuxième décimale.
En contre-partie, il faut, pour obtenir des résultats reproductibles, manipuler très soigneusement, utiliser une verrerie parfaitement sèche et, pour chaque selle analysée, effectuer trois déterminations.

## CONCLUSION

En ce qui concerne l'extraction et le dosage de l'eau dans les selles, nous éliminerons le procédé de distillation azéotropique qui, à notre avis, ne constitue pas un progrès, par rapport aux techniques déjà existantes.

En revanche, nous retiendrons le protocole utilisant la méthode électrochimique de KARL FISCHER. En effet, il est plus rapide que tous ceux qui existent actuellement (1 minute pour le dosage proprement dit) ; il donne des résultats extrêmement performants et tout à fait satisfaisants pour son utilisation en biologie clinique.
Cette méthode, réalisée en vase clos, donc inodore, permet en outre d'obtenir avec une seule solution et à froid, les paramètres cardinaux de l'analyse des selles : l'eau et les lipides.

En ce qui concerne l'extraction des lipides, les performances des méthodes proposées serait appréciées dans le chapître suivant, consacré au dosage en couche mince et en phase gazeuse.

° ° °

# CHAPITRE II

## METHODES CHROMATOGRAPHIQUES DE DOSAGE DES LIPIDES FECAUX

### SECTION I : *Dosage des différentes fractions lipidiques par chromatographie en couche mince.*

Le dosage des lipides dans les matières fécales revêt une grande importance puisque, nous l'avons vu, il rend compte du fonctionnement des différentes étapes de la digestion (estomac, intestin grêle, gros intestin) et des organes assurant la production des enzymes ou adjuvants de la digestion (estomac, foie, pancréas).
Cependant, il est capital de préciser la nature des lipides dosés. En effet, selon la méthode utilisée, les mêmes mots désignent souvent des réalités fort différentes. C'est ainsi que les méthodes acidimétriques, type VAN DEN KAMER, expriment leurs résultats en équivalents d'acide stéarique ou de tristéarine. Le procédé de quantification est fondé sur un fait incontestable : en pathologie digestive, les lipides dont la concentration fécale est la plus élevée, sont les acides gras en $C_{18}$ et leurs esters.

L'inconvénient, dans ce type de calcul, c'est que le résultat du taux global de lipides totaux est exprimé en grammes, fonction du poids moléculaire de l'acide stéarique et de celui de la tristéarine.

En effet, ces résultats ne sont pas superposables à ceux obtenus par les méthodes gravimétriques. Cela tient à ce que la pesée des lipides totaux fait intervenir des graisses de poids moléculaire très différent de celui de l'acide gras et du glycéride sus-nommés.
C'est le cas des phospholipides et des esters du cholestérol dont le poids moléculaire est très supérieur. C'est aussi le cas des acides gras constitués d'un nombre d'atomes de carbone inférieur à 18 et de leurs glycérides dont le poids moléculaire est, au contraire, plus bas. Or, les méthodes gravimétriques sont celles qui, actuellement, servent de référence, ce qui n'empêche pas les méthodes acidimétriques, plus commodes, d'être les plus utilisées.

Il était donc important de disposer d'une méthode de dosage permettant d'apprécier les différentes fractions lipidiques fécales, séparément et les unes par rapport aux autres. C'est ce que réalise le protocole que nous proposons. Il permet, en effet, d'effectuer les analyses sur les produits d'extraction, obtenus lors du dosage de l'eau dans les selles.

## § I - MATERIEL ET METHODE

### *I - MATERIEL :*

Nous avons utilisé un matériel classique de chromatographie, comprenant notamment :

- un étaleur à fente réglable°, permettant de faire des couches d'épaisseur variable ;
- un cadre en matière plastique ;
- des plaques de verre de 17 cm x 2,5 cm x 4 mm ;
- des cuves de développement quadrangulaires° pourvues d'un couvercle rodé permettant leur fermeture hermétique ;
- un gel de silice G°° ;

° *Etablissements DESAGA, GmbH, HEIDELBERG.*
°° *MERCK, DARMSTADT.*

## II - METHODE :

### A - Principe :

La chromatographie en couche mince consiste en la séparation des différents constituants de la solution lipidique, par migration différentielle, à travers un adsorbant d'épaisseur constante, étalé en couche mince sur une plaque de verre : la vitesse de migration des différentes fractions du mélange est fonction de leur polarité respective pour l'adsorbant.

### B - Protocole opératoire :

#### 1°) Préparation des plaques :

Les plaques sont très soigneusement nettoyées et dégraissées. Le gel est préparé extemporanément en mélangeant 30 g de silice G et 60 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 200 à 250 ml muni d'un bouchon. Le mélange est agité énergiquement pendant 30 à 45 secondes et réparti sur les plaques à l'aide de l'étaleur, réglé pour une épaisseur de gel de 0,5 cm. On laisse sécher celles-ci à l'air libre jusqu'à ce que la surface devienne tout à fait mate (10 mn environ), puis on les place pour les activer dans une étuve à 110°C pendant 2 heures, l'adsorbant devant être rigoureusement anhydre. On "lave" alors celui-ci en procédant à une chromatographie "à blanc" des plaques vierges ; pour cela, les plaques, activées, sont introduites sans dépôt de spots dans une cuve à chromatographie contenant de l'éther éthylique. Par capillarité, l'oxyde diéthylique monte et assure le dégraissage de l'adsorbant, évitant la révélation ultérieure du front du solvant due à la présence, dans la silice, d'impuretés organiques. Le lavage est poursuivi jusqu'à ce que l'éther atteigne le bord supérieur de la plaque. Celle-ci est alors retirée de la cuve, séchée et réactivée à l'étuve avant d'être utilisée.

#### 2°) Préparation de la cuve de développement :

On introduit, dans la cuve, le solvant de migration. Nous avons choisi le mélange : hexane, éther éthylique et acide acétique (*85, 15, 2*) (72). On ferme hermétiquement et on laisse saturer l'atmosphère 12 h. On peut, pour assurer une saturation rapide (2 h), tapisser les parois de la cuve de feuilles de papier filtre plongeant dans le solvant.

3°) Dépôt des spots :

Le dépôt des spots peut être réalisé, soit à partir de l'extrait obtenu par distillation azéotropique, soit à partir de celui obtenu à froid, par action d'un mélange-solvants. Dans le premier cas, 10 ml de solution sont évaporés à sec et repris par 1 ml de chloroforme°. 20 µl de cette solution, correspondant en moyenne à 200 µg de lipides, sont déposés, en un trait de 3 mm, sur la plaque à chromatographier, à 1 cm du bord inférieur. Dans le second cas, 10 ml de solution sont évaporés à sec et repris par 0,3 ml de chloroforme°. 20 µl de cette solution, correspondant en moyenne à 200 µg de lipides, sont déposés, en un trait de 3 mm, sur la plaque à chromatographier, à 1 cm du bord inférieur.

Parallèlement, un témoin est réalisé sur une autre plaque provenant du même lot, par dépôt d'un extrait lipidique composé de :

- 10 mg de lécithine° (phospholipides) ;
- 10 mg de monostéarine° (monoglycérides) ;
- 10 mg de distéarine° (diglycérides) ;
- 10 mg de tristéarine° (triglycérides) ;
- 10 mg d'acide stéarique° (acides gras libres) ;
- 10 mg de cholestérol° (cholestérol libre) ;
- 10 mg de palmitate de cholestérol° (cholestérol estérifié).

L'ensemble est dissout dans 100 ml de chloroforme°. 1 ml de cette solution est évaporé à sec, à l'aide de l'évaporateur rotatif, à la température de 50°C et sous vide. On reprend le produit d'évaporation par 70 µl de chloroforme mesurés à la seringue Hamilton°°. 20 µl de cette solution, correspondant à 200 µg de lipides, sont déposés, en un trait de 3 mm, sur la plaque à chromatographier, à 1 cm environ du bord inférieur.

4°) Développement du chromatogramme :

On procède, dans la même cuve, à une chromatogaphie unidimensionnelle ascendante des échantillons et du témoin à la température du laboratoire, durant un temps de 30 minutes. On retire, les plaques de la cuve, puis on fait sécher les chromatogrammes dans une étuve à 110°C pendant 10 minutes.

° *MERCK, DARMSTADT.*
°° *HAMILTON, Company incorporated, WHITTIER, CALIFORNIA.*

5°) Révélation du chromatogramme :

Nous avons choisi d'utiliser la méthode de KAUFFMANN et MAKUS (98) consistant à pulvériser sur les plaques séchées, une solution éthanolique d'acide phosphomolybdique à 10 %. Après 10 minutes de chauffage à l'étuve à 110°C, les lipides apparaissent en bleu sur fond jaune-vert. Dans les conditions opératoires décrites, la limite de détection de ce procédé se situe au-dessous de 0,5 µg pour les acides gras insaturés et aux environs de 1 µg pour les saturés.

6°) Quantification :

*a) Des différentes fractions lipidiques :*

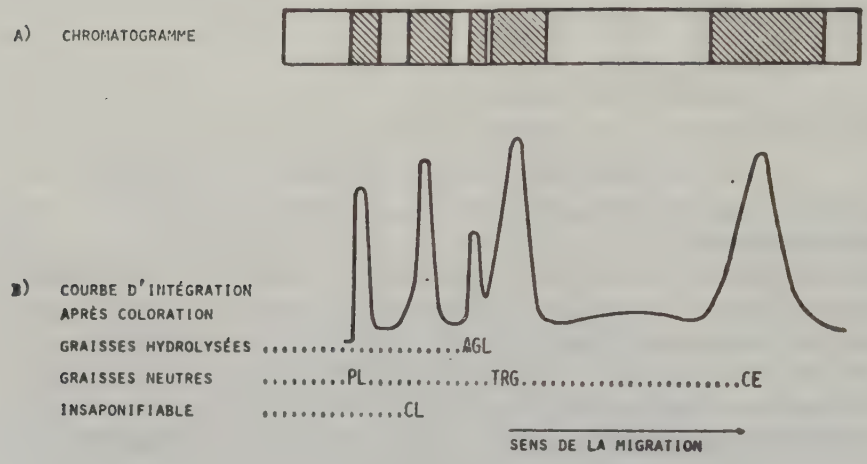
Elle est réalisée selon la méthode de JENSEN et coll. (89), par densitométrie réflectométrique sur un appareil Chromoscan.
Ce type d'appareil comporte une source lumineuse d'intensité constante devant laquelle se déplace la plaque chromatographique. Le faisceau lumineux est réfléchi par celle-ci, puis arrive sur une cellule de mesure reliée à un amplificateur et un système d'enregistrement. Au niveau des fractions lipidiques révélées se produit une forte absorption lumineuse.

L'enregistrement automatique, des variations d'intensité du faisceau émergent, donne une courbe où chaque constituant du mélange étudié apparaît sur le tracé sous forme d'un pic symétrique dont l'aire est proportionnelle à la quantité chromatographiée, ceci pour une même mesure.
On peut connaître ainsi, pour une plaque donnée, avec précision, le pourcentage des différentes fractions lipidiques, les unes par rapport aux autres.

Pour que cette quantification soit valable, il convient de pulvériser le colorant révélateur de façon homogène, puis, afin de neutraliser le bruit de fond du micro-densitomètre, de passer les plaques, avant la mesure, au-dessus d'un flacon d'ammoniac ouvert. Les vapeurs d'ammoniac décoloreront la partie minérale des plaques sans toucher à la partie organique : les lipides apparaîtront alors en bleu sur fond blanc.

Les résultats des différentes fractions lipidiques du chromatogramme sont exprimés en pourcentage ou en gramme pour cent de selles sèches.

SCHEMA N° 8
SCHEMA D'UN CHROMATOGRAMME




Nous avons reproduit, sur la figure précédente, un enregistrement chromatographique des différentes fractions mises dans l'ordre de références croissant.

*b) Des lipides totaux :*

- dosage par colorimètrie :

Nous avions envisagé, au départ, de doser les lipides fécaux totaux par colorimétrie et avions pensé utiliser la méthode sulfo-phospho-vanillique de CHABROL et CHARONNAT (21).

Cette technique, souvent utilisée pour le dosage des lipides totaux, dans le sérum, nous avait séduit par la simplicité de sa mise en oeuvre et par le fait qu'elle n'est influencée ni par la présence des protéines, ni par celle des glucides à la concentration où ils existent dans les milieux biologiques.

Des essais préliminaires, nous ont dissuadé de cette entreprise.

Une étude bibliographique plus poussée (151) nous a alors confirmé que les mauvais résultats obtenus étaient dus au fait que les lipides à acides gras saturés réagissent peu ou pas à la réaction sulfo-phospho-vanillique. Or, nous l'avons vu, c'est précisément cette variété de graisses que les selles renferment en grande quantité et cela d'autant plus que la fraction lipidique totale augmente.

Nous avons alors pensé utiliser l'oxydation chromique des lipides préalablement isolés, proposée par BANG°. Cette méthode qui fait appel à un dosage chromométrique par colorimétrie, avait, pour nous, l'avantage de travailler avec un étalon d'acide palmitique qui est, avec l'acide stéarique, l'acide gras rencontré en plus grande concentration dans les selles.

Cette technique ne nous a pas donné les résultats escomptés, pour deux raisons :

- la première est qu'elle est très sensible à tous les phénomènes d'oxydo-réduction et qu'elle nécessite des précautions de manipulation incompatibles avec la routine de la biologie clinique ;
- la seconde est que les résultats ne sauraient s'exprimer autrement que par un "indice d'oxydation chromique", en corrélation, certes, avec le poids des lipides, mais qui ne peut se substituer à la pesée.

Nous avons également été tentés d'adapter, aux selles, la technique semi-automatique de CANAL, DELATTRE et GIRARD (19), utilisée pour le dosage des lipides totaux du sérum. Cette méthode, dont les résultats sont superposables à ceux de la technique gravimétrique de DELSAL (31), met à profit la propriété qu'ont les polysaccharides sulfatés de floculer quantitativement les émulsions lipidiques à base de phospholipides.

Les résultats que nous avons obtenus par l'utilisation de cette méthode, se sont avérés très décevants. Nous pensons que cet échec est dû au fait que, dans les matières fécales, le rapport phospholipides-lipides totaux est très variable et, en moyenne, trois fois moins élevé que dans le sérum.

Nous avons donc, finalement, opté pour le dosage des lipides fécaux totaux par pesée.

° *BANG, Die mikrobestimmung der blutlipoîde. Biochem. Z. 1918, 91, 235-236.*

- dosage par pesée :

On utilise une aliquote du produit d'extraction obtenue lors du dosage de l'eau, soit par distillation azéotropique, soit par action des ultra-sons et d'un mélange-solvants. Cette prise d'essai est introduite dans un ballon de 50 ml, préalablement taré. Soit $P_1$ le poids en gramme de la tare du ballon. On évapore à sec, sous vide, à l'évaporateur rotatif, à la température de 50°C. On porte 6 h au dessicateur et, on pèse sur une balance de précision. Soit $P_2$ le poids en gramme de cette pesée.

La différence $P_2 - P_1 = P_3$ correspond au poids en gramme des lipides totaux contenus dans la prise d'essai.

Si on travaille sur l'extrait obtenu par distillation azéotropique, cette prise d'essai est de 10 ml. Elle correspond à 0,5 g de selles fraîches. Soit x % le taux d'hydratation de ces matières fécales :

$$\frac{P_3 \cdot 10\,000}{(100 - x)\ 0,5} = P_L$$ : poids en g de lipides pour 100 g de selles sèches

Si on travaille sur l'extrait obtenu par l'action des ultra-sons et d'un mélange solvant, la prise d'essai est de 20 ml. Elle correspond à 0,3 g de selles fraîches. Soit x % le taux d'hydratation de ces matières fécales :

$$\frac{P_3 \cdot 10\,000}{(100 - x)\ 0,3} = P_L$$ : poids en g de lipides pour 100 g de selles sèches

Si on veut savoir le poids en g de lipides contenus dans la totalité des selles sèches, on pèse la totalité des selles fraîches émises. Soit $P_F$ le poids obtenu. Sachant que ces selles ont un taux d'hydratation de x % :

$$\frac{(100 - x)\ P_F}{100} = P_S$$ : poids de selles sèches

et :

$$\frac{P_L \cdot P_S}{100}$$ = poids en g de lipides dans la totalité des selles sèches

## § II - RESULTATS-DISCUSSION

Nous avons procédé à une étude comparative des résultats du dosage des lipides, obtenus par chacune des deux techniques que nous proposons et la méthode classique de MERLAND-COUTHURES (119).

Nous rappelons que le principe de cette dernière qui dérive de la méthode de VAN DEN KAMER, repose sur la détermination acidimétrique des graisses hydrolysées (acides gras libres) et des graisses neutres essentiellement constituées de glycérides et de stérides. Les selles sont hydrolysées, à 100°C, par HCl dilué afin de libérer les acides gras contenus dans les savons ; puis le mélange est traité par l'hexane, en vue de l'extraction :

- la fonction acide des acides gras libres est dosée directement par KOH alcoolique 0,1 N ; puis sur le même échantillon, les esters sont saponifiés à 100°C, par un excès de KOH alcoolique 0,1 N, pendant 15 minutes ;
- l'excès de potasse est dosé en retour par HCl 0,1 N.

Un calcul simple permet d'avoir le taux des graisses hydrolysées (exprimé en équivalents d'acide stéarique) et des graisses neutres (exprimé en équivalents de tristéarine). Cette méthode ne dose donc pas le cholestérol libre contenu dans la fraction insaponifiable.

Sur le tableau suivant, nous avons rapporté un certain nombre de résultats obtenus sur des selles, groupées par ordre de concentration croissante en lipides. Trois échantillons du même prélèvement ont été dosés par une des trois méthodes.

L'étude statistique de ces résultats nous permet de constater que la moyenne des concentrations en lipides des échantillons analysés par la méthode classique correspond à 25,05 g pour 100 g de selles sèches. La limite supérieure d'un résultat normal étant de 25 g pour 100 g de selles sèches (123), la moyenne de la population étudiée, serait donc constituée de sujets normaux, ce qui ne correspond pas à la réalité. Au contraire, les moyennes obtenues pour chacune des deux méthodes proposées sont de 27,12 g pour la distillation azéotropique et de 29,71 g pour la technique aux ultra-sons.

Dans les deux cas, nous nous trouvons en présence d'une population franchement pathologique, la méthode aux ultra-sons se rapprochant le plus de la réalité clinique.

Le fait que les résultats, obtenus par la méthode classique acidimétrique, soient sensiblement plus faibles que ceux des techniques proposées, tient à ce que, contrairement aux deux dernières, elle ne dose pas le cholestérol libre, contenu dans la fraction insaponifiable. D'autre part, dans la méthode classique, les graisses neutres (phospholipides, glycérides, cholestérol estérifié), dont les poids moléculaires sont très différents, sont toutes exprimées en équivalents de tristéarine.

TABLEAU N° XV

ETUDE COMPARATIVE DU POIDS EN G DE LIPIDES DANS 100 G DE SELLES SECHES, EVALUE PAR CHACUNE DES TROIS METHODES

| ECHANTILLONS N° | METHODE DE MERLAND-COUTHURES | DISTILLATION AZEOTROPIQUE | METHODE AUX ULTRA-SONS |
|---|---|---|---|
| 1 | 1,75 | 1,88 | 2,04 |
| 2 | 4,44 | 4,52 | 4,75 |
| 3 | 5,17 | 5,48 | 5,72 |
| 4 | 6,32 | 6,22 | 6,54 |
| 5 | 7,39 | 7,82 | 8,03 |
| 6 | 7,90 | 8,34 | 8,95 |
| 7 | 8,35 | 9,54 | 10,39 |
| 8 | 9,18 | 9,75 | 10,62 |
| 9 | 10,33 | 11,52 | 12,89 |
| 10 | 10,37 | 11,25 | 13,24 |
| 11 | 11,29 | 12,45 | 14,10 |
| 12 | 12,13 | 13,26 | 14,88 |
| 13 | 13,30 | 13,90 | 16,02 |
| 14 | 13,37 | 14,50 | 16,83 |
| 15 | 14,07 | 16,62 | 18,21 |
| 16 | 15,79 | 18,00 | 19,40 |
| 17 | 18,22 | 20,12 | 21,32 |
| 18 | 19,58 | 21,44 | 22,98 |
| 19 | 21,66 | 23,14 | 25,30 |
| 20 | 23,31 | 26,11 | 27,00 |
| 21 | 24,56 | 25,90 | 28,03 |
| 22 | 25,49 | 28,22 | 29,18 |
| 23 | 28,57 | 30,53 | 31,82 |
| 24 | 30,77 | 32,10 | 34,25 |
| 25 | 32,70 | 35,16 | 38,20 |
| 26 | 39,07 | 43,64 | 48,66 |
| 27 | 42,66 | 44,20 | 50,70 |
| 28 | 43,76 | 46,90 | 52,92 |
| 29 | 52,68 | 58,42 | 66,13 |
| 30 | 54,99 | 63,12 | 70,37 |
| 31 | 67,00 | 69,73 | 77,82 |
| 32 | 72,16 | 79,36 | 85,22 |
| 33 | 78,32 | 81,78 | 87,96 |
| | $\bar{x}$ = 25,05<br>S = 20,65 | $\bar{x}$ = 27,12<br>S = 22,21 | $\bar{x}$ = 29,71<br>S = 24,43 |

$\bar{x}$ = moyennes ; S = écarts standards.

La différence de résultats entre les deux méthodes proposées s'explique par le fait que l'extraction, réalisée par la technique aux ultra-sons, est plus efficace, du point de vue quantitatif, que celle réalisée par distillation azéotropique. En effet, dans la première technique, la quantité de selles traitée est très faible (500 mg), alors qu'elle est de 5 g pour la deuxième. La quantité totale de lipides à extraire est donc beaucoup plus faible. D'autre part, l'action des ultra-sons provoque une parfaite fragmentation des matières fécales, ce qui favorise une action extractive optimum des solvants.

Nous avons réalisé une étude comparative des pourcentages des différentes fractions lipidiques, évaluée par chacune des deux méthodes que nous proposons.

*TABLEAU N° XVI*

*TABLEAU COMPARATIF DES RESULTATS OBTENUS PAR CHROMATOGRAPHIE APRES EXTRACTION PAR DISTILLATION AZEOTROPIQUE ET ULTRA-SONS*

| N° | DISTILLATION AZEOTROPIQUE en % | | | | | | | ULTRA-SONS en % | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | P.L. | M.G. | D.G. | C.L. | A.G.L | T.G. | C.E. | P.L. | M.G. | D.G. | C.L. | A.G.L | T.G. | C.E. |
| 1 | 5,1 | 6,4 | 0 | 7,6 | 14,7 | 48,4 | 17,9 | 5,4 | 6,0 | 0 | 7,8 | 14,5 | 48,2 | 18,1 |
| 2 | 10,1 | 3,8 | 2,4 | 17,3 | 22,2 | 14,8 | 29,4 | 10,0 | 3,6 | 2,3 | 17,4 | 22,4 | 14,6 | 29,7 |
| 3 | 10,0 | 3,9 | 4,6 | 9,0 | 28,1 | 30,6 | 13,8 | 10,3 | 3,8 | 4,5 | 8,9 | 28,2 | 30,8 | 13,5 |
| 4 | 7,3 | 4,7 | 7,0 | 15,2 | 13,0 | 14,4 | 38,4 | 7,1 | 5,0 | 7,1 | 15,1 | 12,8 | 14,3 | 38,6 |
| 5 | 3,0 | 0 | 5,8 | 13,8 | 27,7 | 14,5 | 35,2 | 2,8 | 0 | 5,6 | 13,9 | 27,9 | 14,7 | 35,1 |
| 6 | 7,9 | 6,1 | 8,3 | 9,1 | 29,4 | 14,7 | 24,5 | 7,8 | 6,3 | 8,6 | 8,9 | 29,2 | 14,9 | 24,3 |
| 7 | 7,8 | 6,4 | 6,3 | 10,7 | 28,4 | 23,9 | 16,5 | 7,6 | 6,5 | 6,5 | 10,9 | 28,3 | 23,9 | 16,3 |
| 8 | 8,5 | 13,2 | 5,1 | 14,8 | 13,3 | 29,1 | 16,0 | 8,4 | 13,0 | 5,2 | 14,9 | 13,1 | 29,2 | 16,2 |
| 9 | 9,9 | 4,0 | 7,4 | 8,1 | 20,9 | 31,2 | 18,5 | 10,0 | 4,0 | 7,3 | 8,0 | 20,7 | 31,3 | 18,7 |
| 10 | 4,1 | 6,2 | 28,1 | 14,5 | 6,2 | 4,1 | 36,8 | 3,9 | 5,9 | 28,4 | 14,7 | 5,9 | 3,9 | 37,2 |
| n= | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $\bar{x}$= | 7,37 | 5,47 | 7,50 | 12,01 | 20,39 | 22,57 | 24,70 | 7,33 | 5,41 | 7,55 | 12,05 | 20,30 | 22,58 | 24,77 |
| s= | 2,53 | 3,34 | 7,65 | 3,49 | 8,17 | 12,67 | 9,50 | 2,59 | 3,29 | 7,75 | 3,53 | 8,28 | 12,68 | 9,61 |

*P.L. = phospholipide ; M.G. = monoglycéride ; D.G. = diglycéride ; C.L. = cholestérol libre ; A.G.L. = acides gras libres ; T.G. = triglycéride ; n = nombre de déterminations ; $\bar{x}$ = moyenne s = écart standard.*

De cette étude, il ressort que les résultats obtenus sont sensiblement identiques, alors que, nous l'avons vu, du point de vue de l'extraction des lipides totaux, la méthode aux ultra-sons s'était montrée plus performante.

Nous avons comparé la méthode aux ultra-sons à celle de MERLAND-COUTHURES.

TABLEAU N° XVII
TABLEAU COMPARATIF DES RESULTATS OBTENUS PAR :
- LA METHODE CHROMATOGRAPHIQUE AUX ULTRA-SONS
- LA METHODE DE MERLAND-COUTHURES

| N° | METHODE CHROMATOGRAPHIQUE | | | | | | | | | METHODE DE MERLAND-COUTHURES | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | POURCENTAGE DES FRACTIONS | | | | | | | G.H. % | G.N. % | G.H. % | G.N. % |
| | P.L. | M.G. | D.G. | C.L. | AGL. | T.G. | C.E. | | | | |
| 1 | 5,4 | 6,0 | 0 | 7,8 | 14,5 | 48,2 | 18,1 | 15,7 | 84,3 | 87,1 | 12,9 |
| 2 | 10,0 | 3,6 | 2,3 | 17,4 | 22,4 | 14,6 | 29,7 | 27,1 | 72,9 | 66,6 | 33,4 |
| 3 | 10,3 | 3,8 | 4,5 | 9,0 | 28,2 | 30,8 | 13,5 | 31,0 | 69,0 | 95,1 | 4,9 |
| 4 | 7,1 | 5,0 | 7,1 | 15,0 | 12,8 | 14,3 | 38,6 | 15,1 | 84,9 | 78,2 | 21,8 |
| 5 | 2,8 | 0 | 5,6 | 13,9 | 27,9 | 14,7 | 35,1 | 32,4 | 67,6 | 92,4 | 7,6 |
| 6 | 7,8 | 6,2 | 8,6 | 8,9 | 29,2 | 14,9 | 24,3 | 16,4 | 83,6 | 92,3 | 7,7 |
| 7 | 7,6 | 6,5 | 6,5 | 10,9 | 28,3 | 23,9 | 16,3 | 31,8 | 68,2 | 81,8 | 18,2 |
| 8 | 8,4 | 13,0 | 5,2 | 14,9 | 13,0 | 29,2 | 16,2 | 15,3 | 84,7 | 43,7 | 56,3 |
| 9 | 10,0 | 4,0 | 7,3 | 8,0 | 20,7 | 31,3 | 18,7 | 22,5 | 77,5 | 71,9 | 28,1 |
| 10 | 3,9 | 5,9 | 28,4 | 14,7 | 5,9 | 3,9 | 37,2 | 6,9 | 93,1 | 90,6 | 9,4 |
| nombre de déterminations | | | | | | | n = | 10 | 10 | 10 | 10 |
| moyennes | | | | | | | $\bar{x}$ = | 21,4 | 78,5 | 79,9 | 20,0 |
| écarts standards | | | | | | | s = | 8,8 | 8,8 | 15,8 | 15,8 |

Afin de confronter des valeurs comparables, nous avons calculé, pour la méthode chromatographique que nous proposons, le pourcentage des graisses hydrolysées (G.H.), correspondant à la fraction acides gras libres (A.G.L.) et des graisses neutres (G.N.) constituées de la somme des phospholipides (P.L.), des glycérides (monoglycérides (M.G.) + diglycérides (D.G.) + triglycérides (T.G.) et du cholestérol estérifié (C.E.)).

Dans ce pourcentage, nous n'avons pas fait intervenir le cholestérol libre (C.L.) qui n'est pas dosé par la méthode de MERLAND-COUTHURES ; pas plus d'ailleurs que par celle de VAN DEN KAMER dont elle dérive, le cholestérol libre étant contenu dans l'insaponifiable.

A la lecture de ce tableau, nous remarquons immédiatement, que la technique proposée exprime les résultats d'une manière beaucoup plus explicite que la méthode classique. Mais, ce qui attire surtout l'attention, c'est la très grande différence de résultats que l'on constate en comparant le rapport G.H./G.N. de chacune des deux méthodes. Nous avons voulu vérifier si la différence provenait du mode d'extraction. Dans ce but, nous avons, avant hydrolyse, soumis à l'analyse chromatographique des extraits de selles, obtenus par le procédé de MERLAND-COUTHURES. Nous avons comparé les résultats à ceux obtenus, pour la même selle traitée par la méthode aux ultra-sons.

Les résultats de cette étude sont rapportés dans le tableau suivant.

*TABLEAU N° XVIII*

*TABLEAU COMPARATIF DES RESULTATS OBTENUS PAR CHROMATOGRAPHIE, APRES EXTRACTION PAR LA METHODE AUX ULTRA-SONS ET CELLE DE MERLAND-COUTHURES, AVANT HYDROLYSE*

| N° | MERLAND-COUTHURES (avant hydrolyse) en % | | | | | | | | | ULTRA-SONS en % | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | P.L. | M.G. | D.G. | C.L. | A.G.L | T.G. | C.E. | G.H. | G.N. | P.L. | M.G. | D.G. | C.L. | A.G.L | T.G. | C.E. | G.H. | G.N. |
| 1 | 5,1 | 5,3 | 0 | 5,9 | 23,3 | 45,1 | 15,3 | 24,7 | 75,3 | 5,4 | 6,0 | 0 | 7,8 | 14,5 | 48,2 | 18,1 | 15,7 | 84,3 |
| 2 | 9,2 | 3,2 | 1,8 | 15,7 | 30,5 | 13,1 | 26,5 | 36,2 | 63,8 | 10,0 | 3,6 | 2,3 | 17,4 | 22,4 | 14,6 | 29,7 | 27,1 | 72,9 |
| 3 | 8,9 | 3,1 | 3,2 | 7,8 | 39,0 | 28,3 | 9,7 | 42,3 | 57,7 | 10,3 | 3,8 | 4,5 | 8,9 | 28,2 | 30,8 | 13,5 | 31,0 | 69,0 |
| 4 | 6,4 | 4,7 | 6,5 | 12,9 | 21,9 | 13,4 | 34,2 | 25,1 | 74,9 | 7,1 | 5,0 | 7,1 | 15,1 | 12,8 | 14,3 | 38,6 | 15,1 | 84,9 |
| 5 | 2,6 | 0 | 4,8 | 12,1 | 36,4 | 13,8 | 30,3 | 41,4 | 58,6 | 2,8 | 0 | 5,6 | 13,9 | 27,9 | 14,7 | 35,1 | 32,4 | 67,6 |
| 6 | 6,6 | 5,7 | 7,9 | 7,8 | 37,2 | 14,1 | 20,7 | 40,3 | 59,7 | 7,8 | 6,3 | 8,6 | 8,9 | 29,2 | 14,9 | 24,3 | 16,4 | 83,6 |
| 7 | 7,0 | 5,1 | 5,8 | 8,9 | 37,7 | 21,3 | 14,2 | 41,3 | 58,7 | 7,6 | 6,5 | 6,5 | 10,9 | 28,3 | 23,9 | 16,3 | 31,8 | 68,2 |
| 8 | 8,0 | 12,8 | 4,8 | 14,1 | 17,1 | 28,3 | 14,9 | 19,9 | 80,1 | 8,4 | 13,0 | 5,2 | 14,9 | 13,0 | 29,2 | 16,2 | 15,3 | 84,7 |
| 9 | 9,3 | 3,8 | 6,9 | 7,5 | 26,8 | 28,7 | 17,0 | 28,9 | 71,1 | 10,0 | 4,0 | 7,3 | 8,0 | 20,7 | 31,3 | 18,7 | 22,5 | 77,5 |
| 10 | 3,7 | 5,0 | 26,9 | 13,1 | 13,7 | 3,8 | 33,8 | 15,7 | 84,3 | 3,9 | 5,9 | 28,4 | 14,7 | 5,9 | 3,9 | 37,2 | 6,9 | 93,1 |
| n= | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| x̄= | 6,68 | 4,87 | 6,86 | 10,58 | 28,36 | 20,99 | 21,66 | 31,58 | 68,42 | 7,33 | 5,41 | 7,55 | 12,05 | 20,30 | 22,58 | 24,77 | 21,42 | 78,58 |
| s= | 2,31 | 3,24 | 7,44 | 3,37 | 9,18 | 11,84 | 8,88 | 9,93 | 9,93 | 2,59 | 3,29 | 7,75 | 3,23 | 8,28 | 12,68 | 9,61 | 8,82 | 8,82 |

*P.L. = phospholipide ; M.G. = monoglycéride ; D.G. = diglycéride ; C.L. = cholestérol libre ; A.G.L. = acide gras libre ; T.G. = triglycéride ; C.E. = cholestérol estérifié ; G.H. = graisses hydrolysées ; G.N. = graisses neutres ; n = nombre de détermination ; x̄ = moyenne ; s = écart standard.*

L'examen de ces résultats montre que, si certaines grosses molécules lipidiques (cholestérol libre, estérifié

et phospholipides) semblent mieux extraites par la méthode proposée que par la technique classique, la grande différence des résultats ne peut en aucun cas trouver son explication au niveau du procédé d'extraction.
Nous avons aussi voulu vérifier si cette différence n'était pas due à une hydrolyse des fractions lipidiques estérifiées, engendrée par le temps d'hydrolyse de la méthode classique.

Dans ce but, nous avons soumis à l'analyse chromatographique des selles traitées dans les conditions décrites par la méthode de MERLAND-COUTHURES ; une chromatographie de l'extrait étant réalisée avant le temps d'hydrolyse, une autre étant réalisée après.

*TABLEAU N° XIX*

*TABLEAU REPRESENTATIF DES RESULTATS DU DOSAGE CHROMATOGRAPHIQUE ET ACIDIMETRIQUE, AVANT ET APRES HYDROLYSE DES LIPIDES FECAUX EXTRAITS SELON LA METHODE DE MERLAND-COUTHURES*

| N° | HYDROLYSE | CHROMATOGRAPHIE en % | | | | | | | | | ACIDIMETRIE en % | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | P.L. | M.G. | D.G. | C.L. | A.G.L | T.G. | C.E. | G.H. | G.N. | G.H. | G.N. |
| 1 | AVANT | 5,1 | 5,3 | 0 | 5,9 | 23,3 | 45,1 | 15,3 | 24,7 | 75,3 | 81,8 | 18,2 |
| | APRES | 3,9 | 4,8 | 0 | 6,4 | 28,9 | 41,3 | 14,7 | 30,9 | 69,1 | 87,1 | 12,9 |
| 2 | AVANT | 9,2 | 3,2 | 1,8 | 15,7 | 30,5 | 13,1 | 26,5 | 36,2 | 63,8 | 62,7 | 37,3 |
| | APRES | 8,1 | 2,9 | 1,5 | 16,6 | 33,1 | 12,5 | 25,3 | 39,7 | 60,3 | 66,6 | 33,4 |
| 3 | AVANT | 8,9 | 3,1 | 3,2 | 7,8 | 39,0 | 28,3 | 9,7 | 42,3 | 57,7 | 90,5 | 9,5 |
| | APRES | 8,1 | 2,7 | 2,8 | 8,5 | 42,6 | 26,2 | 9,1 | 46,5 | 53,5 | 95,1 | 4,9 |
| 4 | AVANT | 6,4 | 4,7 | 6,5 | 12,9 | 21,9 | 13,4 | 34,2 | 25,1 | 74,9 | 74,9 | 25,1 |
| | APRES | 5,8 | 4,5 | 5,8 | 14,7 | 24,3 | 14,1 | 30,8 | 28,5 | 71,5 | 78,2 | 21,8 |
| 5 | AVANT | 2,6 | 0 | 4,8 | 12,1 | 36,4 | 13,8 | 30,3 | 41,4 | 58,6 | 87,6 | 12,4 |
| | APRES | 2,2 | 0 | 4,2 | 13,9 | 39,6 | 12,4 | 27,7 | 46,0 | 54,0 | 92,3 | 7,6 |
| 6 | AVANT | 6,6 | 5,7 | 7,9 | 7,8 | 37,2 | 14,1 | 20,7 | 40,3 | 59,7 | 87,1 | 12,9 |
| | APRES | 6,1 | 5,3 | 7,2 | 9,0 | 39,4 | 13,6 | 19,4 | 43,9 | 56,1 | 92,3 | 7,1 |
| 7 | AVANT | 7,0 | 5,1 | 5,8 | 8,9 | 37,7 | 21,3 | 14,2 | 41,3 | 58,7 | 78,3 | 21,7 |
| | APRES | 6,2 | 4,7 | 5,0 | 10,7 | 41,4 | 19,5 | 12,5 | 46,3 | 53,7 | 81,8 | 18,2 |
| 8 | AVANT | 8,0 | 12,8 | 4,8 | 14,1 | 17,1 | 28,3 | 14,9 | 19,9 | 80,1 | 41,5 | 58,5 |
| | APRES | 7,7 | 12,2 | 4,4 | 15,8 | 18,4 | 27,4 | 14,1 | 21,8 | 78,2 | 43,7 | 56,2 |
| 9 | AVANT | 9,3 | 3,8 | 6,9 | 7,5 | 26,8 | 28,7 | 17,0 | 28,9 | 71,1 | 68,4 | 31,6 |
| | APRES | 8,6 | 3,6 | 6,6 | 8,6 | 28,6 | 27,9 | 16,1 | 31,9 | 68,8 | 71,9 | 28,1 |
| 10 | AVANT | 3,7 | 5,0 | 26,9 | 13,1 | 13,7 | 3,8 | 33,8 | 15,7 | 84,3 | 85,2 | 14,8 |
| | APRES | 3,5 | 4,7 | 25,8 | 14,2 | 16,9 | 3,5 | 31,4 | 19,7 | 80,3 | 90,6 | 9,4 |
| AVANT | n= | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | x= | 6,68 | 4,87 | 6,86 | 10,58 | 28,36 | 20,99 | 21,66 | 31,58 | 68,42 | 75,80 | 24,20 |
| | s= | 2,31 | 3,24 | 7,44 | 3,37 | 9,18 | 11,84 | 8,88 | 9,93 | 9,93 | 14,97 | 14,97 |
| APRES | n= | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | x= | 6,02 | 4,54 | 6,33 | 11,84 | 31,32 | 19,84 | 20,11 | 35,45 | 64,65 | 79,97 | 20,03 |
| | s= | 2,20 | 3,11 | 7,20 | 3,60 | 9,45 | 10,91 | 8,08 | 10,34 | 10,34 | 15,85 | 15,85 |

A la lecture de ces résultats, nous constatons qu'au cours du temps d'hydrolyse, une fraction non négligeable de lipides estérifiés est hydrolysée, avec libération d'acides gras.

Cette méthode de travail nous a permis de mettre en évidence un artéfact de dosage apparaissant à la suite de l'hydrolyse sur des extraits de selles riches en acides gras libres et en phospholipides. Cht artéfact apparaît au point de migration des triglycérides.

Les deux cas les plus démonstratifs sont rapportés sur le tableau suivant. Il s'agit de selles provenant de malades atteints de néoplasie, l'un du foie l'autre du pancréas. Pour accentuer le phénomène, nous avons porté la durée de l'hydrolyse de 1 à 10 minutes.

*TABLEAU N° XX*
*TABLEAU COMPARATIF DES RESULTATS DE CHROMATOGRAPHIE D'EXTRAITS DE SELLES AVANT ET APRES LE TEMPS D'HYDROLYSE DE LA METHODE DE MERLAND-COUTHURES*

| N° | HYDROLYSE | P.L. | M.G. | D.G. | A.G.L. | T.G. | C.E. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11 | AVANT | 8,3 | 1,2 | 12,5 | 68,8 | 0 | 9,2 |
| | APRES | 5,8 | 1,4 | 12,9 | 60,2 | 10,8 | 8,1 |
| 12 | AVANT | 17,4 | 9,7 | 11,5 | 50,4 | 0 | 11,0 |
| | APRES | 13,7 | 10,9 | 13,6 | 40,2 | 11,2 | 10,4 |

On constate, pour ces selles, n° 11 et 12, avant l'hydrolyse, l'absence de triglycérides et la présence d'une grande quantité de phospholipides et d'acides gras libres ; après l'hydrolyse, l'apparition d'une quantité non négligeable de triglycérides et, simultanément, une diminution des acides gras libres et des phospholipides, comme si les triglycérides étaient synthétisés au cours de l'hydrolyse aux dépens des phospholipides et des acides gras libres.

Nous avons essayé de synthétiser, dans les mêmes conditions, des triglycérides à partir de phospholipides et d'acides gras libres très purs, utilisés comme étalon en chromatographie. Les résultats sont décevants quelles que soient les concentrations utilisées.

Nous avons voulu vérifier si les résultats étaient identiques en utilisant des phospholipides et des acides gras libres obtenus par chromatographie en couche mince, à partir d'extraits de selles.

Dans ce but, nous avons préparé, dans les conditions précédemment décrites, des plaques à chromatographie de 20 cm x 20 cm. On dépose, au centre de la plaque et sur une longueur de 3 cm, 0,20 ml d'extrait lipidique de selles obtenu par la méthode aux ultra-sons et correspondant en moyenne à 2 mg de lipides. Sur chaque côté de la plaque, on dépose, en un trait de 3 mm de longueur, réalisé à 1 cm du bord externe de la plaque, 20 µl du même extrait correspondant en moyenne à 200 µg de lipides. La migration est réalisée dans les conditions déjà décrites.
Pour la révélation, le centre de la plaque est recouvert d'un cache en verre de telle sorte que seules les parties latérales soient accessibles à la révélation permettant de localiser les différentes fractions lipidiques.

Ces fractions sont grattées dans l'espace correspondant à leurs localisations respectives. Le support de silice est récupéré, les différents groupes de lipides étant introduits dans des tubes à centrifuger différents.
Les phospholipides et les acides gras libres sont extraits par le mélange chloroforme-méthanol. Chaque tube est traité par du mélange pour extraction. On agite, on soumet aux ultra-sons 15 minutes, on centrifuge, on recueille le surnageant, on remet du liquide d'extraction. On procède ainsi à trois extractions successives. On regroupe tous les surnageants correspondant à une même fraction lipidique, on évapore à sec, on reprend par 1 ml de chloroforme. On traite, ainsi, 30 chromatogrammes réalisés à partir de dix échantillons de selles différents. On obtient un pool de phospholipides et un pool d'acides gras libres. Ces deux pools sont mélangés. On vérifie par chromatographie que le mélange ainsi constitué ne contient que deux fractions lipidiques : les phospholipides et les acides gras libres.
On détermine le pourcentage respectif de ces deux fractions d'une part, par densitométrie, selon la technique déjà exposée (p. 111) et d'autre part, par spectrophotométrie.

Dans ce dernier cas, après chromatographie sur des plaques, on procède à l'extraction de ces deux fractions lipidiques selon la technique précédemment exposée.
Sur ce produit d'extraction, on dose les phospholipides par la réaction de CONNERTY (26) et les acides gras libres après leur transformation en sels de cuivre et leur solubilisation dans l'hexane (36).

Dans ces conditions, nous avons observé, après hydrolyse, la formation d'une quantité non négligeable de triglycérides, aux dépens des phospholipides et des acides gras libres. Les résultats de cette expérience sont rapportés sur le tableau suivant.

*TABLEAU N° XX1*

*TABLEAU REPRESENTATIF DES RESULTATS DE CHROMATOGRAPHIE D'UN EXTRAIT LIPIDIQUE FECAL, AVANT ET APRES HYDROLYSE, QUANTIFIE PAR DENSITOMETRIE ET PAR SPECTROPHOTOMETRIE*

| HYDROLYSE | PHOSPHOLIPIDES | | ACIDES GRAS LIBRES | | TRIGLYCERIDES | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | A % | B % | A % | B % | A % | B % |
| AVANT | 29,2 | 27,4 | 70,8 | 72,6 | 0 | 0 |
| APRES | 25,3 | 23,7 | 62,6 | 64,6 | 12,1 | 11,7 |

Notons que l'un des 10 échantillons ayant servi à cette expérience, provenait d'un malade atteint d'une néoplasie de l'intestin. Nous avons, au cours d'une autre expérience, remplacé cet échantillon par un autre provenant d'un malade atteint d'une colopathie spasmodique ; nous n'avons plus, alors, observé d'artéfact.

L'ensemble de cette étude, nous amène à penser que la différence observée entre les résultats obtenus par la méthode que nous proposons et celle de MERLAND-COUTHURES est due à plusieurs causes surajoutées.
D'abord, l'extraction réalisée par la méthode classique n'est pas homogène pour l'ensemble des fractions lipidiques : elle favorise les petites molécules (acides gras libres), par rapport aux plus grosses (cholestérol libre et estérifié, phospholipides). Ensuite, le temps d'attaque acide de la méthode classique provoque l'hydrolyse de quantités non négligeables de lipides estérifiés, au profit des acides gras libres.
Ce temps d'hydrolyse, a pour but, rappelons-le, de libérer les acides gras contenus dans les savons, mais ne doit pas, dans l'esprit de l'auteur, s'attaquer aux acides gras contenus dans les esters. Un autre inconvénient de l'attaque acide réside dans le fait qu'elle peut, dans certains cas, certes exceptionnels, donner lieu à des artéfacts susceptibles de fausser les résultats.

Enfin, le procédé de quantification, utilisé par la méthode de MERLAND-COUTHURES et beaucoup d'autres, qui, comme elle, dérivent de celle de VAN DEN KAMER est discutable. En effet, il s'agit d'une méthode qui dose, comme acides gras libres, tous les acides organiques solubles dans les solvants des graisses. En outre, elle exprime en équivalents d'acide stéarique (à 18 atomes de carbone), la totalité des acides gras fécaux dont les chaînes vont de 12 à 18 atomes de carbone. Les acides gras de bas poids moléculaire étant assimilés à l'acide stéarique, le pourcentage de cette fraction lipidique se trouve surestimé. Enfin et surtout, la méthode classique exprime l'ensemble des fractions lipidiques estérifiées en équivalents de tristéarine, ce qui a pour effet de minimiser considérablement celles-ci, le poids moléculaire de la tristéarine étant très inférieur à celui des phospholipides ou des esters du cholestérol. Le pourcentage des graisses neutres est donc, par ce procédé de calcul, très sous-estimé.

Nous avons défini, pour la plus performante des deux méthodes que nous proposons (technique aux ultra-sons), une limite de normalité, obtenue par l'étude de la composition lipidique des selles de 24 heures, chez 18 citadins français, adultes et sains, soumis à un régime ordinaire. Les résultats mettent en évidence les variations considérables de concentration en lipides fécaux pouvant exister chez des individus, considérés comme normaux.

Ces grandes variations sont sensibles aussi bien au niveau des lipides totaux que des différentes fractions lipidiques. Elles sont dues, à notre avis, à la nature des graisses alimentaires ingérées. En effet, nous avons vu qu'en fonction de la longueur des chaînes lipidiques, de leur degré de saturation, de la position occupée par tel ou tel acide gras dans un glycéride donné, la digestion et l'absorption des graisses alimentaires sont plus ou moins rapides et donc leur concentration dans les selles plus ou moins importante. Or, la nature des graisses est très différente, selon qu'elles sont d'origine animale ou végétale ou qu'elles sont consommées crues ou cuites.

Les résultats que nous avons obtenus, sont consignés dans le tableau suivant.

TABLEAU N° XXII

TABLEAU REPRESENTATIF DES TAUX NORMAUX DE LIPIDES FECAUX ANALYSES PAR LA METHODE AUX ULTRA-SONS SUR 18 CITADINS FRANCAIS, ADULTES ET SAINS

| SUBSTANCES | CONCENTRATIONS g/100 g de selles sèches | | | POURCENTAGES en % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | MOYENNE | ECART STANDARD | LIMITES | MOYENNE | ECART STANDARD | LIMITES |
| LIPIDES TOTAUX | 12,61 | 5,94 | 2,04 - 22,98 | | | |
| PHOSPHOLIPIDES | 0,98 | 0,55 | 0,68 - 1,29 | 7,73 | 0,32 | 5,4 - 10,3 |
| MONOGLYCERIDES | 0,69 | 0,42 | 0 - 3,58 | 5,46 | 0,38 | 0 - 28,4 |
| DIGLYCERIDES | 0,98 | 0,96 | 0 - 1,27 | 7,73 | 0,90 | 0 - 10,1 |
| CHOLESTEROL LIBRE | 1,66 | 0,75 | 0,89 - 3,20 | 13,16 | 0,67 | 7,1 - 25,4 |
| ACIDES GRAS LIBRES | 2,62 | 1,31 | 0,74 - 3,68 | 20,81 | 0,95 | 5,9 - 29,2 |
| TRIGLYCERIDES | 2,81 | 1,99 | 0 - 6,08 | 22,32 | 1,73 | 0 - 48,2 |
| CHOLESTEROL ESTERIFIE | 2,87 | 1,52 | 0,52 - 4,87 | 22,73 | 1,57 | 4,1 - 38,6 |

Signalons, enfin, que l'utilisation, de plus en plus répandue, de techniques rapides de conservation et de préparation des aliments avant consommation est susceptible de provoquer une modification de la nature des lipides ingérés.
De même, il faut tenir compte de l'influence possible sur l'absorption des lipides alimentaires, de facteurs secondaires tels que les vins, les alcools courants, différents produits pharmaceutiques de consommation courante au premier rang desquels se trouvent l'aspirine, les laxatifs et les contraceptifs oraux.

° ° °

SECTION II : *Dosage des différentes fractions d'acides gras libres par chromatographie en phase gazeuse.*

## § I - MATERIEL ET METHODE

### *I - MATERIEL :*

C'est une enceinte thermostatée qui contient une chambre d'injection, une colonne et un détecteur, dont les températures respectives peuvent être réglées, indépendamment les unes des autres. Nous avons couplé à ce chromatographe un enregistreur SIEMENS (Kompensograph III).

- gaz vecteur : il représente la phase mobile. Il est constitué d'azote contenu dans une bouteille à haute pression. Le débit de ce gaz est mesuré par un débimètre à film de savon ;
- chambre d'injection : elle est reliée à la colonne et traversée par le gaz vecteur. Les substances y sont introduites à l'aide d'une microseringue (seringue Hamilton), sous un volume toujours inférieur à 100 µl, en traversant à l'aide de l'aiguille la membrane d'élastomère ;
- colonne : elle est formée d'une spirale creuse en acier inoxydable, d'une longueur de 1m50, d'un diamètre intérieur de 4 mm et d'un diamètre extérieur de 6 mm. Sa forme spiralée lui permet d'occuper un volume relativement restreint dans l'enceinte. Elle est remplie par 16 g de chromosorb W, support solide, inerte, formé de fins granulés de 80 à 100 Mesh, imbibé de 20 % de polysuccinate de diéthylène glycol (D.E.G.S.), liquide qui constitue la phase stationnaire.
- détecteur : nous avons travaillé avec un détecteur à ionisation de flamme dont le principe de fonctionnement est le suivant : le gaz vecteur en sortie de colonne est mélangé à de l'hydrogène qui est brûlé en même temps que les composés carbonylés entre deux électrodes.
  Il permet l'analyse de routine de substances organiques à des concentrations de l'ordre du nanogramme. Il est insensible aux composés inorganiques et n'est pas affecté par de petites variations de température. Trois flux gazeux sont nécessaires pour travailler avec ce type de détecteur : le gaz vecteur, l'hydrogène et l'air. Il n'y a de réponse du détecteur ni à l'eau, ni au sulfure de carbone et ni à l'air

## *II - METHODE :*

### A - Principe

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode permettant la séparation des différents constituants d'un mélange par échange de ses constituants entre une phase mobile gazeuse et une phase fixe solide ou liquide disposée dans une colonne traversée par le courant gazeux. On peut, en première approximation, assimiler la colonne à chromatographie à une colonne à distiller possédant un très grand nombre de plateaux.

On appelle "nombre de plateaux théoriques" le nombre de plateaux qu'aurait une colonne à distiller permettant les mêmes séparations que la colonne à chromatographie étudiée. Plus le nombre de plateaux théoriques d'une colonne est grand, meilleures seront les séparations que l'on pourra obtenir. Le nombre de plateaux théoriques (n) se calcule à partir du chromatogramme par la formule :

$$n = 16 \frac{(dr_a)^2}{(W_a)^2}$$

où $dr_a$ désigne la distance de rétention du corps A et $W_a$ la largeur à la base du pic A.

### B - Protocole opératoire

Le protocole utilisé comporte :

- une chromatographie préparative sur couche mince de l'extrait obtenu par la technique aux ultra-sons, suivie d'une extraction des différentes fractions lipidiques chromatographiques.
- une transméthylation ;
- une chromatograhie en phase gazeuse.

#### 1°) Chromatographie préparative

On prépare, dans les conditions déjà décrites, des plaques à chromatographie de 20 cm x 20 cm, recouvertes, sur une épaisseur de 0,5 cm, d'une suspension à base de gel de silice G et d'eau. On dépose au centre de la plaque et sur une longueur de 5 cm, 0,20 ml d'extrait lipidique de selles obtenu par la méthode aux ultra-sons et correspondant, en moyenne, à 2 mg de lipides. Sur chaque côté de la plaque, on dépose, en un trait de 1 cm de longueur, réalisé à 1 cm du bord externe de la plaque, 20 µl du même extrait correspondant en moyenne à 200 µg de lipides.

La migration est réalisée dans les conditions précédemment décrites, dans une cuve contenant un mélange : hexane-éther éthylique-acide acétique pur. Les différentes fractions sont récupérées selon la technique détaillée p. 123 Les phospholipides sont extraits par le mélange chloroforme-méthanol-eau (10-10-3) ; les acides gras libres par de l'heptane ; les triglycérides par le mélange éther-éthanol (1-3) ; le cholestérol libre et estérifié par du chloroforme pur. Chaque tube est traité par 4 cc du mélange pour extraction. On agite, on soumet aux ultra-sons 15 minutes, on centrifuge, on recueille le surnageant dans un ballon rodé de 100 ml. On remet 4 cc du liquide d'extraction. On procède, ainsi, à 3 extractions successives, tous les surnageants correspondant à une même fraction lipidique étant regroupés dans un même ballon. On évapore à sec chacun des ballons. C'est ce résidu d'évaporation qui sera soumis à une transméthylation.
On ajoute aux différents extraits secs 40 ml de méthanol contenant 5 % d'acide sulfurique. On porte à ébullition pendant 2 heures au réfrigérant à reflux. Puis, dans une ampoule à décanter, on transvase les 40 ml de méthanol sulfurique. On ajoute 10 ml d'éther de pétrole et 20 ml d'eau pour avoir deux phases.
Cette opération est réalisée 3 fois. On recueille toutes les phases éthérées. On lave l'ensemble avec 3 fois 5 ml d'eau afin de bien enlever tout l'acide. On sèche en ajoutant une pincée de $Na_2SO_4$. On filtre, on évapore à sec et on reprend par 1 ml d'hexane.

C'est cet extrait qui sera utilisé pour la chromatographie en phase gazeuse.

## 2°) Chromatographie en phase gazeuse

A l'aide du débimètre à film de savon, on règle le débit de l'air à 200 $cm^3/mn$, celui de l'azote à 27 $cm^3/mn$, celui de l'hydrogène à 24 $cm^3/mn$. Le détecteur est porté à une température de 250°C, l'injecteur à 260°C. La colonne à une température constante de 150°C. La sensibilité de l'appareil est réglée $8 \times 10^{-10}$, la vitesse de déroulement du papier sur l'enregistreur à 600 mm/heure. On introduit dans la chambre à injection, à l'aide d'une seringue Hamilton, 5 µl d'échantillon.

Le repérage des pics d'acides gras et le contrôle de leur quantification est réalisé à l'aide d'un mélange d'acides gras étalons dont la composition est la suivante :

- acide laurique ($C_{12}$ : 0) ..... 1 %
- acide myristique ($C_{14}$ : 0) ..... 3,5 %
- acide palmitique ($C_{16}$ : 0) ..... 33 %
- acide stéarique ($C_{18}$ : 0) ..... 9 %
- acide oléique ($C_{18}$ : 1) ..... 22 %
- acide linoléique ($C_{18}$ : 2) ..... 1,5 %

Notre enregistreur étant dépourvu d'intégrateur électromécanique, nous avons déterminé les surfaces des pics par triangulation.

## C - Résultats-discussion

Nous avons calculé le nombre de plateaux théoriques, obtenu pour les acides gras de $C_{12}$ à $C_{18}$ avec la colonne utilisée, dans les conditions opératoires décrites.

*TABLEAU N° XXIII*

*TABLEAU REPRESENTATIF DU NOMBRE DE PLATEAUX THEORIQUES OBTENU AVEC NOTRE COLONNE POUR DES ACIDES GRAS DE $C_{12}$ A $C_{18}$ PAR DEUX METHODES DE TRAVAIL DIFFERENTES*

| ACIDES GRAS | $dr_a$ (mm) | | $w_a$ (mm) | | $n = 16 \frac{(dr_a)2}{(w_a)2}$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | N° 1 | N° 2 | N° 1 | N° 2 | N° 1 | N° 2 |
| $C_{12}$ | 21 | 78 | 4 | 6 | 442 | 2704 |
| $C_{14}$ | 29 | 110 | 10 | 8 | 135 | 3024 |
| $C_{16}$ | 55 | 142 | 17 | 12 | 167 | 2240 |
| $C_{18}$ | 104 | 168 | 15 | 9 | 769 | 5568 |
| $C_{18}$ 1Δ | 114 | 174 | 9 | 10 | 2567 | 4848 |
| $C_{18}$ 2Δ | | 183 | | 11 | | 4432 |

Nous avons comparé les résultats obtenus en travaillant d'une part à température constante (150°C), d'autre part à température programmée de 90 à 185°C.

L'étude de ces résultats montre que, à la température constante de 150°C, le nombre de plateaux théoriques obtenu est inférieur à 2000 pour les acides gras à l'exception de $C_{18}$ 1Δ. Or, une bonne séparation des acides gras n'est obtenue que pour un nombre de plateaux théoriques supérieur à 2000 (131). En revanche, les résultats obtenus en travaillant à température programmée font apparaître que, dans ce cas, le nombre de plateaux théoriques est très supérieur à 2000, atteignant 5568 pour des acides gras en $C_{18}$, ce qui rend compte d'une séparation extrêmement satisfaisante.

Au vu de ces résultats, nous avons donc décidé de travailler à température programmée. Nous avons ensuite comparé les résultats obtenus pour des échantillons extraits d'une part par la méthode de MERLAND-COUTHURES (M.C.), d'autre part par distillation azéotropique (D.A.), enfin par notre méthode aux ultra-sons (U.S.).

Les résultats sont consignés sur le tableau suivant.

*TABLEAU N° XXIV*

*ETUDE COMPARATIVE DES RESULTATS OBTENUS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE POUR DES EXTRAITS DE SELLES REALISES PAR LA METHODE DE MERLAND-COUTHURES, DISTILLATION AZEOTROPIQUE ET NOTRE METHODE AUX ULTRA-SONS*

| N° | $C_{12}$ | | | $C_{14}$ | | | $C_{16}$ | | | $C_{18}$ | | | $C_{18_{1\Delta}}$ | | | $C_{18_{2\Delta}}$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M.C. | D.A. | U.S. | M.C. | D.A. | U.S. | M.C. | D.A. | U.S. | M.C. | D.A. | U.S. | M.C. | D.A. | U.S. | M.C. | D.A. | U.S. |
| 1 | 0,1 | 0,3 | 0,3 | 2,1 | 2,3 | 2,5 | 30,3 | 31,3 | 32,8 | 36,2 | 38,4 | 39,9 | 28,7 | 24,8 | 24,5 | 2,3 | 2,9 | 0 |
| 2 | 1,0 | 1,3 | 1,1 | 14,4 | 14,6 | 14,7 | 46,0 | 47,3 | 50,2 | 20,5 | 21,9 | 24,6 | 8,9 | 7,4 | 6,4 | 9,2 | 7,5 | 3,0 |
| 3 | 1,4 | 1,6 | 1,4 | 14,2 | 14,3 | 14,3 | 31,3 | 30,6 | 32,9 | 34,2 | 34,4 | 35,0 | 17,7 | 17,8 | 16,4 | 1,2 | 1,3 | 0 |
| 4 | 7,0 | 7,4 | 7,3 | 7,4 | 7,6 | 7,7 | 33,8 | 35,7 | 39,9 | 18,9 | 17,5 | 14,6 | 27,1 | 26,6 | 26,4 | 5,8 | 5,2 | 4,1 |
| 5 | 5,9 | 6,1 | 6,4 | 7,3 | 7,6 | 7,7 | 35,1 | 36,2 | 37,4 | 15,6 | 16,2 | 17,2 | 30,1 | 27,7 | 28,3 | 6,0 | 6,2 | 3,0 |
| 6 | 1,6 | 1,7 | 1,8 | 6,5 | 6,5 | 6,7 | 31,2 | 30,9 | 32,7 | 15,9 | 16,2 | 18,7 | 40,7 | 40,3 | 38,4 | 4,1 | 3,8 | 1,7 |
| 7 | 5,7 | 5,5 | 5,6 | 18,3 | 19,8 | 21,1 | 29,2 | 29,1 | 29,7 | 10,3 | 10,6 | 12,2 | 31,3 | 29,3 | 27,0 | 5,2 | 5,7 | 4,4 |
| 8 | 5,3 | 5,6 | 5,5 | 6,8 | 7,1 | 7,0 | 30,3 | 32,8 | 36,6 | 16,0 | 15,8 | 16,1 | 31,5 | 28,5 | 26,2 | 10,1 | 10,2 | 8,6 |
| 9 | 0,8 | 0,8 | 0,9 | 2,4 | 2,3 | 2,5 | 14,8 | 17,2 | 18,1 | 61,1 | 62,8 | 64,9 | 18,0 | 14,8 | 13,6 | 2,9 | 2,1 | 0 |
| 10 | 0,5 | 0,6 | 0,6 | 3,1 | 3,3 | 3,4 | 14,6 | 14,5 | 15,9 | 36,8 | 57,4 | 59,4 | 21,5 | 21,3 | 18,1 | 3,5 | 2,9 | 2,6 |
| n= | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $\bar{x}$= | 2,96 | 3,09 | 3,09 | 8,25 | 8,54 | 8,76 | 29,70 | 30,56 | 32,62 | 28,55 | 29,12 | 30,26 | 25,55 | 23,91 | 22,53 | 5,03 | 4,78 | 2,74 |
| s= | 2,65 | 2,71 | 2,75 | 5,57 | 5,87 | 6,10 | 9,24 | 9,32 | 10,00 | 18,02 | 18,53 | 19,07 | 9,09 | 9,19 | 9,03 | 2,88 | 2,73 | 2,64 |

Ces résultats montrent que, pour des acides gras en $C_{12}$ et $C_{14}$, l'extraction semble comparable pour les trois méthodes, la troisième étant légèrement plus performante.

Pour les acides gras en $C_{16}$, l'extraction semble sensiblement plus efficace par la méthode aux ultra-sons que par les deux autres.

Au niveau des acides gras en $C_{18}$, nous avons réalisé une comparaison entre les trois méthodes, portant sur le nombre de double liaisons dont la variation de pourcentage rend compte du degré d'oxydation de ces lipides.

Au vu de ces résultats, il semble que la méthode de MERLAND-COUTHURES, soit celle qui engendre le plus de modifications au niveau des doubles liaisons.
Cela peut être dû au fait qu'elle comporte un temps d'hydrolyse réalisé, à ébullition, à l'aide d'HCl, la combinaison de ces deux fractions pouvant entraîner une oxydation importante. Les phénomènes d'oxydation sont de moindre importance pour la méthode de distillation azéotropique, technique d'extraction à chaud, mais qui présente, sur la précédente, l'avantage de ne pas utiliser d'acide chlorhydrique.

La méthode entraînant le moins de perturbations est, au vu de ces résultats, celle aux ultra-sons, technique d'extraction à froid, n'utilisant pas d'acide chlorhydrique.

## CONCLUSION

Le protocole mis au point par nous, pour le dosage des lipides fécaux par chromatographie en couche mince et en phase gazeuse se révèle extrêmement intéressant, aussi bien du point de vue purement analytique que du point de vue diagnostic.

En ce qui concerne l'aspect analytique, il nous permet de disposer d'un outil de travail efficace et précis grâce auquel il devient possible d'explorer, séparément et non plus globalement, chacune des fractions lipidiques fécales. Cela nous a permis d'apporter des arguments chiffrés à la suspicion que nous portons aux techniques d'extraction et au mode de calcul des méthodes dérivées de celle de VAN DEN KAMER.

De même, nous avons pu déterminer, avec précision, que la plus performante des deux méthodes d'extraction que nous proposions, était celle réalisée à froid par l'action combinée d'un mélange-solvant et d'ultra-sons.

Du point de vue diagnostic, la qualité des résultats obtenus et la facilité de leur interprétation sont à même de fournir aux cliniciens des informations précieuses, cette méthode de travail contribuant à affiner le diagnostic biologique des affections digestives.

# CHAPITRE III

## ELEMENTS DE DISCUSSION

Dans les chapîtres précédents, nous avons démontré l'importance de l'analyse des lipides fécaux dans l'étude de la physiologie de la digestion et son intérêt dans le diagnostic en pathologie digestive.

Nous avons mis l'accent sur les carences des méthodes analytiques classiques, actuellement existantes. Nous avons décrit les techniques que nous avons mises au point : extractions simultanées de l'eau et des lipides par l'action combinée d'un mélange-solvant et d'ultrasons ; dosage de l'eau par la méthode de KARL FISCHER ; dosage des lipides par chromatographie préparative en couche mince, puis densitométrie et chromatographie en phase gazeuse. Nous avons fait état des performances de ces méthodes.

Nous nous proposons, maintenant, d'étudier quelques observations, susceptibles de fournir des éléments de discussion.

## SECTION I : *Dossiers cliniques.*

### § I - OBSERVATION N° I : Mme T.I., 70 ans :

Cette malade âgée, manifeste, trois semaines avant son hospitalisation, dans un contexte d'altération de l'état général, un ictère qui s'accroît progressivement.

Au début, elle est prise de vomissements alimentaires post-prandiaux, d'une diarrhée constituée de selles liquides, blanches (mastic), de volume important. Puis, elle présente une hépatalgie continue et une oligurie. Son état nécessite alors une hospitalisation.

L'étude de ses antécédents personnels permet d'apprendre qu'elle est porteuse d'une diverticulose du grêle et d'une gastrectomie des 2/3 pour ulcus gastrique avec réintervention pour une éventration.

La biologie fait apparaître une bilirubine à 77 mg/l, des phosphatases alcalines à 228 UI/l, des transaminases normales, pas de syndrome inflammatoire, pas de leucocytose.

L'examen coprologique réalisé par les méthodes classiques met en évidence une stéatorrhée à 75,3 g de lipides pour 100 g de selles sèches.

Au cours de son séjour hospitalier, cette malade présente une hématémèse abondante. Une endoscopie permet de constater que cette hémorragie digestive est causée par de très volumineuses varices oesophagiennes qui descendent jusqu'au cardia et qui traduisent une *hypertension portale* sans doute en rapport avec une thrombose spléno-portale. L'endoscopie met, également en évidence, une gastrite hémorragique localisée.

Une cholangiographie transpariétale permet de diagnostiquer, chez cette personne un *cancer de la tête du pancréas*, entraînant une *compression extrinsèque du cholédoque* dans sa portion rétro-pancréatique. Cette sténose serrée, régulière et axiale s'étend sur 3 cm environ.

Conformément à ses voeux, cette malade est adressée, après 15 jours d'hôpital, à un chirurgien de ses amis, pour une éventuelle intervention au pronostic très sombre.

## § II - OBSERVATION N° II : Mr. A.P., 56 ans

Ce malade est hospitalisé en mai 1974, pour des douleurs abdominales mal définies. Depuis juillet 1973, il présente des troubles digestifs ayant d'abord revêtu l'allure de gastralgies, puis des douleurs plus diffuses de l'abdomen, un peu plus marquées au niveau de la fosse iliaque et du flanc droits. On note, également, l'existence d'une constipation. Les phénomènes douloureux s'inscrivent dans un contexte d'altération de l'état général avec un amaigrissement qui se chiffre à 20 kg.

L'examen clinique met en évidence une masse régulière, dure, dans la fosse iliaque droite ; une seconde masse dure et sensible au niveau du creux épigastrique. Sur le plan biologique, il existe simplement une vitesse de sédimentation globulaire un peu accélérée (25 mm à la première heure, 56 mm à la deuxième) et une stéatorrhée à 55 g de lipides pour 100 g de selles sèches. Il n'y a pas d'anémie et le bilan biologique de routine est parfaitement normal, exploration hépatique et pancréatique comprises.

Compte tenu des constatations d'examen, les investigations sont orientées vers le côlon. Le lavement baryté révèle, alors, une *virole néoplasique au niveau de l'angle droit*. La scintigraphie hépatique est normale. La laparoscopie met en évidence un foie de coloration normale, sans métastases visibles. En revanche, il existe une *ascite* assez importante ne permettant pas de visualiser le côlon. Enfin et surtout la laparoscopie permet d'observer, au niveau de l'hypochondre droit, sur le péritoine pariétal, des lésions qui évoquent une *carcinose péritonéale*, ce qui est confirmé par le prélèvement biopsique.

## § III - OBSERVATION N° III : Mr. A.S., 63 ans

Ce malade présente un ictère de type cholostatique qui fonce progressivement, devenant même verdâtre et qui motive l'hospitalisation 15 jours après son apparition. Cet ictère est accompagné d'une élévation très importante des phosphatases alcalines supérieures à 1000 UI/l et surtout d'un élément de cytolyse net avec des transaminases à 500 UI/l qui, par la suite, diminuent.

Deux possibilités peuvent être alors envisagées : ou bien ce patient est porteur d'une hépatite virale prolongée à forme cholostatique, ou bien il existe un obstacle de cette voie biliaire. Il est donc pratiqué un certain nombre d'explorations en vue de trancher le débat.

La cholangiographie transpariétale ne permet pas d'opacifier les voies biliaires. Un cathétérisme de la papille par voie endoscopique conduit à une opacification du Wirsung qui semble à peu près normal ; en revanche, la voie biliaire ne peut pas non plus être injectée.

La laparoscopie met en évidence un gros foie vert de cholostase ; la vésicule biliaire n'est pas distendue. Le diagnostic s'oriente, alors, vers l'existence d'un calcul enclavé dans le canal cystique, cela d'autant plus que, sur le transit gastro-duodénal, il semble exister une calcification qui pourrait correspondre à un calcul.

A la suite de ces examens, le malade est opéré. Il s'agit, en fait, d'un *cancer du bas cholédoque propagé au niveau du pédicule hépatique*, le canal cystique étant pris dans la masse néoplasique.
L'intervention a consisté en une anastomose cholédoco-jéjunale. A la sortie d'hôpital, un mois et demi après son admission, ce malade s'alimente normalement et est cicatrisé au niveau de sa laparotomie, ses téguments ont repris une couleur à peu près normale. Son pronostic vital reste, malgré tout, très sombre.

## § IV - OBSERVATION N° IV : Mr. T.G., 33 ans

Cet homme jeune présente en 3 ans, trois violentes crises douloureuses épigastriques durant chaque fois 48 h, avec iléus réflexe, accompagnée d'hyperglycémie transitoire.

Ces crises se manifestent l'été, à la fin de ses vacances, après des excès alimentaires et de boissons alcoolisées. Elles débutent dès le matin.
Ce malade présente, alors, des vertiges, des phénomènes à type de tâches blanches devant les yeux, une asthénie intense. Puis la douleur apparaît, en barre, de siège épigastrique et de l'hypocondre gauche, à type de torsion.
Cette douleur très intense, irradie vers les lombes et bloque l'inspiration profonde. Il n'y a pas de position antalgique, pas de vomissement ni même de nausées, pas de frisson.
En revanche, le malade est pris de sueurs profuses pendant la crise douloureuse. Cette douleur va crescendo puis au bout de 6-7 heures, arrivée au paroxysme, déclenche chez lui, une soif intense. Il perd alors connaissance pendant 1 à 2 minutes, avec chute. Lorsqu'il se réveille, il n'a aucun souvenir de ce qui s'est passé. Il ne s'en rend compte que par le fait qu'il s'est mordu. La crise comitiale est suivie d'un état dépressif anxieux et d'une asthénie.

Ce malade est hospitalisé en mars 1976, pour un syndrome douloureux abdominal aigu. De l'examen clinique, nous retiendrons, chez ce petit éthylique, une douleur épigastrique intense et une hépatomégalie. Comme antécédents, on note chez cet homme marié, une appendicectomie à 8 ans et une hépatite virale à 12 ans.

Le bilan pratiqué à l'hôpital conduit au diagnostic de *pancréatite oedemateuse avec stéatorrhée, obstruction de la veine splénique, hypertension portale segmentaire, crise comitiale et diabète.*

Ce malade quitte l'hôpital au bout de 15 jours, avec un traitement et un régime appropriés.

## § V - OBSERVATION N° V : Mr. C.A., 73 ans

Ce malade est hospitalisé en janvier 1976, pour une hépatomégalie avec altération de l'état général.

L'histoire de cet homme peut se résumer par la survenue d'une anorexie progressive ayant débuté deux mois auparavant, avec, comme contexte, simplement une vague douleur de l'hypocondre gauche calmée par l'émission de gaz. Il n'y a pas d'accès fébrile connu, pas de désordres intestinaux ou urinaires et dans ses antécédents, on relève, outre un éthylisme dont il ne fait pas mystère, une bronchite chronique traînante et une intervention sur l'estomac dont on ne connaît pas la nature exacte.

A l'examen clinique, l'abdomen présente une tension para-ombilicale, mais il n'y a pas de réseau veineux d'hypertension portale. Le palper abdominal met en évidence un énorme foie de 26 cm de flèche hépatique qui a ceci de particulier que son bord inférieur n'a pas de contact de sclérose et c'est seulement en remontant les côtes que l'on perçoit les nodosités. L'examen du reste de l'abdomen est normal, la tension, aussi bien au niveau des bras que des chevilles, est normale, de même que les réflexes.

Dans ces conditions, deux possibilités diagnostiques peuvent être envisagées : une stéatose avec cirrhose ou une métaplasie ayant colonisé le foie.
L'artériographie met en évidence un foie avec une vascularisation rigide, sans encorbeillement et le lipiodol, fait en course, permet d'éliminer la seconde hypothèse.

Une laparoscopie est tentée, malgré les adhérences et confirme que le foie est de nature stéatosique et régulier. D'ailleurs, la ponction biopsie de ce foie revient avec une *stéatose* à 80 %.

Le bilan biologique confirme ce diagnostic. Il met en évidence une réduction de la surface fonctionnelle du foie à 55/32 ; l'altération cellulaire se manifeste par une chute des protides totaux à 46 avec des albumines à 22,2. Les tests cytolytiques sont normaux, la bilirubine est à peine augmentée à 16 mg/l sans élévation ni des phosphatases alcalines ni des lipides totaux. Enfin, les tests de floculation sont normaux avec un Thymol-test à 1, un Kunkel-phénol à 2 et un test de GROS à 1,2 unités vernes. Ajoutons à cela une anémie assez nette à 2 810 000 avec 11 g d'hémoglobine et surtout une macrocytose à 114.

Le diagnostic proposé, à ce moment, est celui de stéatose pré-cirrhose et une anémie assez sévère. Aucun signe de déperdition sanguine n'est observé ; d'ailleurs, la macrocytose est en faveur d'une anémie de formation et l'on peut se demander s'il n'existe pas chez ce gastrectomisé une malabsorption.

Un contrôle radiographique de l'estomac révèle une gastrectomie totale. Les anses intestinales, jéjunales présentent, radiologiquement, des anomalies faites essentiellement d'exudats et un élargissement des plis muqueux témoignant d'une atteinte assez importante du grêle.

Les tests biochimique classiques mettent en évidence une élimination excessive des graisses : 5,36 - 13,45 et 8,56 - la normale ne dépassant pas 5. Le résultat du test au deltaxylose est chez lui très réduit : 3,40 - la normale étant aux environs de 7.

La malabsorption ne fait alors guère de doute et explique assez bien les états anémiques dont nous avons fait état.

Un test de SHILLING montre une élimination urinaire sans facteur intrinsèque à 10 % et avec facteur intrinsèque à 25 %, ce qui témoigne d'une absorption relativement satisfaisante. Le test de FIGLU est douteux.

Une biopsie du grêle met en évidence une atrophie villositaire partielle avec oedème du chorion et altération très marquée de l'épithélium de recouvrement.

Des examens complémentaires révèlent que ce malade est, en même temps, porteur d'une tuberculose pulmonaire avec B.K. positifs sur les crachats après ensemencement sur milieu de LOEWENSTEIN.

Au total, ce *gastrectomisé porteur d'une tuberculose pulmonaire en activité était atteint d'une atrophie villositaire post-gastrectomie avec malabsorption*, correspondant vraisemblablement à une *maladie coeliaque de l'adulte*, de révélation tardive.

L'hépatomégalie, avec foie stéatosique dont il est porteur, est à mettre en rapport avec la malnutrition qu'entretient chez lui l'association de cet antécédent et de ces deux affections.

Ce malade sort de l'hôpital pour un sanatorium, en mars 1976, muni d'un traitement anti-tuberculeux et d'un régime sans gluten strict, associé à une surveillance régulière des apports caloriques. A sa sortie d'hôpital, son foie a nettement diminué puisque la flèche est passée de 26 à 13 cm.

## § VI - OBSERVATION N° VI : Mme D.M., 61 ans

Cette malade est admise pour un syndrome douloureux épigastrique à irradiation haute, faisant évoquer une pathologie gastrique, chez une diabétique connue depuis 1 an. Cette sexagénaire se plaint d'un syndrome douloureux épigastrique non rythmé par les repas, à irradiation ascendante, ne s'accompagnant pas de vomissements mais de flatulence post-prandiale avec, de temps à autre, une sensation de barre trans-thoracique qui fait évoquer une participation coronarienne. On note, par ailleurs, une certaine anorexie et un amaigrissement modéré.

L'examen clinique, chez cette femme très agitée, ne montre, sur le plan digestif, qu'un foie un peu augmenté de volume, dépassant de deux travers de doigt le rebord costal, isolé, sans splénomégalie ni circulation collatérale. Le reste de l'examen clinique en particulier cardio-vasculaire demeure normal.

Sur le plan périphérique, on note une certaine diminution des oscillations, au niveau des membres inférieurs en particulier à droite, sans expression clinique patente.

Les examens biologiques de routine ne montrent ni syndrome anémique, ni perturbation de la formule, ni modification des tests de floculation.

Les phosphatases alcalines sont à la limite supérieure de la normale, le cholestérol est normal, l'électrophorèse des protéines également.
Enfin, la vitesse de sédimentation est à 15/35. La glycémie d'entrée est à 1,30 g/l avec une glycosurie de 1,5 g par 24 h. Il n'y a pas de perturbation notable de la fonction rénale et la concentration en urée de l'urine est satisfaisante. La coprologie clinique classique montre une légère stéatorrhée (32,70 g de lipides pour 100 g de selles sèches).

Sur le plan radiologique, il n'existe pas de cardiomégalie, pas de signe d'insuffisance cardiaque sur les clichés du poumon.

La cholécystographie orale ne permet pas d'opacifier correctement la vésicule. En ce qui concerne le transit gastroduodénal, on ne trouve aucune image de hernie hiatale malgré la symptomatologie clinique. Seule la région bulbo-duodénale est quelque peu déformée et incite à pratiquer une fibroscopie qui ne montre aucune lésion de gastrite et aucune lésion bulbaire ou duodénale. Le tubage gastrique révèle l'existence d'une hypochlorhydrie avec un volume de sécrétion ne dépassant pas 85 cc. Le lavement baryté est normal.

Au total, il n'est pas retrouvé chez cette malade de pathologie organique évidente et la plupart des manifestations fonctionnelles sont reliées à son état neuro-psychique. Seul est retenu le *problème vésiculaire*, dont l'évolution sous sédatif nerveux est favorable, puisque les épigastralgies et le syndrome postural s'atténuent relativement rapidement. La malade prend 2 kilos pendant son séjour à l'hôpital. Son diabète est équilibré par des sulfamides hypoglycémiants.

## § VII - OBSERVATION N° VII : Mr. M.G., 32 ans

Ce portugais, sans antécédents notables, entre dans sa maladie en juillet 1973, date à laquelle apparaissent des douleurs épigastriques, irradiant en ceinture, vaguement dans le dos, sur lesquelles nous n'avons pas beaucoup de précisions. Il semble que, dès ce moment-là, il éprouve le besoin de se plier en avant et de se comprimer l'épigastre, évoquant par là une étiologie pancréatique. Il n'est pas trouvé de rythme horaire très spécial, la périodicité est assez désordonnée. La première période douloureuse s'étale de juillet à août, puis après une accalmie de 3 mois, des douleurs du même type réapparaissent.

Cependant, fin mars, on note trois éléments nouveaux : un sub-ictère (la bilirubine totale étant le 9 avril de 17 mg/l), une hyperthermie et une altération profonde de l'état général, avec amaigrissement de 13 kilos en un mois. Son état nécessite alors une hospitalisation.

A l'examen, on est frappé par le teint vert olive du malade : l'ictère est à peine marqué, la biologie révélant une bilirubine totale ne dépassant pas 10 mg/l. L'abdomen est souple, le foie n'est pas augmenté de volume, la rate est à peine percutable, mais on trouve, dans l'hypocondre gauche, en profondeur, une zone particulièrement douloureuse.

Les examens thoracique et neurologique sont négatifs. La possibilité d'un ulcère perforé avec suppuration de l'arrière cavité des épiploons ou une suppuration intra-hépatique est envisagée, mais la biologie évoque l'absence de syndrome suppuratif, les leucocytes étant de 5 900/mm$^3$, les polynucléaires neutrophiles à 67 % et la vitesse de sédimentation ne dépassant pas 26/55. L'ictère n'est certainement pas obstructif puisque le cholestérol sérique ne dépasse pas 1,30 g/l, les phosphatases étant normales.
L'hépatite virale est également exclue, les transaminases étant normales. L'amylasémie confirme l'étiologie pancréatique, puisqu'elle est à 256 Unité Wolgmuth, elle est à 512 U.W. dans les urines.

Une biligraphie montre l'intégrité absolue des voies biliaires qui ne sont pas dilatées. L'artériographie met en évidence la légère déformation de la splénique, l'examen radiologique, une formation kystique de la région corporéocaudale pancréatique.

Au total, le diagnostic posé est celui de *pancréatite récurrente avec formation d'un faux kyste du pancréas chez un petit éthylique.*

Ce malade revu cinq mois plus tard, après régime et traitement approprié, présente toujours un léger symptôme douloureux, mais les examens biologiques se sont normalisés : amylasémie 4 U.W. ; amylasurie 8 U.W. ; vitesse de sédimentation 5/6 ; bilan biologique entièrement normal. De même, la fibroscopie et le transit gastroduodénal se sont révélés normaux.

## § VIII - OBSERVATION N° VIII : Mr. A.M., 63 ans

Ce malade est hospitalisé pour des douleurs abdominales diffuses, prédominantes au niveau des hypocondres et pour des troubles du transit (fausses diarrhées avec émission de 4-5 selles par jour) avec ballonnement et météorisme.

Chez cet homme, insuffisant respiratoire chronique, on retrouve à l'examen un abdomen globalement sensible avec prédominance au niveau de l'hypocondre droit et de l'épigastre. Du point de vue biologique, on ne note aucune anomalie majeure, en particulier, sa vitesse de sédimentation globulaire est à 6 mm à la première heure, sa numération-formule est normale et le reste de son bilan général et hépatique ne montre pas d'anomalie. La coprologie clinique classique reste dans les limites de la normale. Du bilan radiologique (cholécystographie orale, transit gastro-duodénal et lavement baryté), on retient seulement la notion d'une colite spasmodique, prédominante au niveau du sigmoïde.

Etant donné la sévérité de son atteinte respiratoire, la possibilité d'un foie cardiaque est évoquée, malgré l'absence d'hépatomégalie importante. L'administration de diurétiques a pour effet une amélioration très sensible avec disparition totale du syndrome douloureux.

Le malade est donc, en fait, porteur de deux pathologies plus ou moins imbriquées : d'une part une *colite spasmodique* qui est responsable des *troubles du transit*, habituels chez ce patient et d'autre part, un *foie cardiaque*.

Ce sexagénaire sort après 15 jours d'hôpital, avec un traitement approprié (colarine° + aldactone°°). Revu un mois après, il est en bonne santé, son transit est normal, ses douleurs ont disparu.

## § IX - OBSERVATION N° IX : Mr. C.F., 80 ans

Ce malade est adressé, pour une première fois, à l'hôpital pour un melaena, en mars 1974. Il présente à l'endoscopie, une double lésion : une petite ulcération oesophagienne à 35 cm des arcades dentaires, avec une petite hernie hatiale, mais surtout une énorme ulcération ténébrante de la face postérieure de l'antre. Le pourtour de cette lésion est hémorragique et fait envisager une intervention.

° *FURT, 2, rue de Rivière - 33000 BORDEAUX-*
°° *CLIN-COMER-BYLA, 20, rue des Fossés-Saint-Jacques -75240 PARIS-*

Cet octogénaire gastrectomisé pour un ulcère de la grande courbure antrale, se plaint, un an plus tard, d'une reprise des douleurs, permanentes depuis six mois environ avec un amaigrissement de 5 kilos et des vomissements de type bilieux.

Un bilan complet permet de mettre en évidence une double ulcération post-anastomotique ainsi qu'une oesophagite intense avec ulcération plane de la partie moyenne de l'oesophage. Une deuxième intervention est pratiquée (dégastro-gastrectomie avec gastrectomie type Polya). Trois mois après, il est à nouveau hospitalisé pour des vomissements post-prandiaux précoces pour lesquels une fibroscopie est effectuée. Elle s'avère normale, sans lésion focalisée, en dehors d'une oesophagite. Des examens radiologiques mettent en évidence une anse afférente, un peu distendue, pouvant faire évoquer le syndrome de l'anse borgne.

Tout au long de son hospitalisation, les vomissements ont disparu sous une diététique sévère. En effet, le malade avait fractionné ses repas ; il semble qu'une part psychologique importante soit à l'origine des troubles fonctionnels chez un *gastrectomisé porteur d'une oesophagite et d'un syndrome de l'anse borgne*. Une reprise organique du processus a été écartée.

A sa sortie (septembre 1975) le malade présente un bilan biologique normal.

## § X - OBSERVATION N° X : Mr. B.T., 22 ans

Ce jeune nord-africain est admis à l'hôpital en octobre 1975, pour des troubles divers, après une gastrectomie pratiquée le 15/9/1974, pour une perforation, intervention qui a été compliquée d'une hémorragie.

Les suites opératoires immédiates ont été acceptables mais depuis le 1er avril, date correspondant à la reprise du travail, cet homme se plaint de troubles importants. Ceux-ci comportent une forte asthénie, des vertiges, la perception de douleurs épigastriques avec régurgitation et surtout distension de l'hypocondre gauche, survenant dès le réveil, aggravés par les repas et améliorés par des vomissements qui peuvent être alimentaires ou bilieux.

Le malade signale également une flatulence difficile ; l'expulsion des gaz intestinaux amène une sédation relative. Depuis le premier avril, les douleurs sont quotidiennes, il n'y a pas de position antalgique. Pourtant les selles sont d'apparence normale et il n'y a pas de troubles urinaires. Il dit n'avoir présenté aucun syndrome hépato-biliaire antérieurement.

Fait essentiel, depuis le 1er avril, il n'a pas maigri. On ne note aucune manifestation pulmonaire ou cardiaque. L'examen clinique est sensiblement négatif. Sur le plan biologique, il n'y a pas d'anémie, aucune dysprotidémie et les différents tests d'exploration sont négatifs. Sur le plan radiologique, on note une poche de moyenne capacité avec liquide de stase à jeun. La bouche d'anastomose est nettement étirée, rigide mais ne présente pas de signe d'ulcération peptique. La bouillie passe dans une anse afférente qui refoule les gaz jusqu'au moignon gastrique. Aucune lésion n'est visible sur l'anse afférente. L'anse efférente d'évacuation est pelotonnée, distendue et s'évacue mal. Au total, il existe une inversion du courant, une stase et un défaut d'évacuation de l'estomac. La vésicule est plicaturée, collée au foie et présente des signes de dyskinésie sans calcul. Sur le plan fibroscopique, on observe un moignon normal, une stomatite assez importante, pas d'ulcère gastrique.

Ce *gastrectomisé asthénique, dyspeptique et dysneurotonique* devait effectuer 3 autres séjours à l'hôpital, durant lesquels, les différents bilans pratiqués ne retinrent qu'une *mauvaise évacuation de l'estomac* ainsi qu'une *stomatite discrète*.

Devant l'échec des différentes thérapeutiques essayées chez un malade à la recherche d'une invalidité permanente et dont l'ancienneté des troubles et leur retentissement sur l'activité, pouvait faire craindre une installation de ce patient dans son tableau, il lui a été conseillé, en mai 1976, d'être pris en charge sur le plan psychothérapeutique.

° ° °

## SECTION II : *Résultats analytiques. Discussion.*

### § I - ANALYSE DES RESULTATS

Dans les tableaux suivants, nous avons reproduit les résultats chromatographiques concernant les cas pathologiques que nous venons d'étudier. Les chromatogrammes correspondants ont été groupés à la fin de cet ouvrage.

Dans le tableau n° 25, figurent les chiffres obtenus, par chromatographie, en couche mince, des extraits lipidiques des selles de ces malades (observations de 1 à 10).

*TABLEAU N° XXIII*
*RESULTATS OBTENUS PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE DES EXTRAITS LIPIDIQUES FECAUX DES MALADES ETUDIES ET DE SUJETS NORMAUX*

| N° | GRAISSES HYDROLYSEES | GRAISSES NEUTRES | | | | | | INSAPONIFIABLE | LIPIDES TOTAUX |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A.G.L. | M.G. | D.G. | T.G. | TOTAL | P.L. | C.E. | C.L. | |
| 1 | 47,96 | 2,59 | 8,73 | 8,12 | 19,44 | 4,06 | 6,39 | 8,56 | 86,41 |
| 2 | 20,69 | 1,20 | 2,60 | 4,57 | 8,37 | 3,17 | 27,09 | 11,05 | 70,37 |
| 3 | 59,29 | 0 | 4,75 | 5,98 | 10,73 | 1,23 | 11,96 | 4,75 | 87,96 |
| 4 | 32,80 | 3,77 | 4,10 | 15,47 | 23,34 | 1,39 | 6,88 | 1,72 | 66,13 |
| 5 | 22,74 | 0,57 | 3,20 | 1,04 | 4,81 | 3,38 | 8,32 | 4,07 | 43,32 |
| 6 | 8,52 | 1,99 | 1,56 | 4,70 | 8,25 | 1,26 | 14,90 | 5,27 | 38,20 |
| 7 | 3,65 | 0,84 | 0,84 | 3,08 | 4,76 | 0,98 | 2,10 | 1,40 | 12,89 |
| 8 | 0,99 | 0,99 | 4,78 | 0,66 | 6,43 | 0,66 | 6,28 | 2,47 | 16,83 |
| 9 | 9,76 | 0,95 | 1,65 | 1,51 | 4,11 | 1,79 | 9,48 | 2,89 | 28,03 |
| 10 | 1,86 | 1,40 | 1,69 | 7,13 | 10,22 | 3,09 | 11,59 | 1,86 | 28,62 |
| $\bar{x}$ = | 20,83 | 1,43 | 3,39 | 5,23 | 10,05 | 2,10 | 10,30 | 4,40 | 44,88 |
| s = | 20,24 | 1,09 | 2,34 | 4,41 | 6,46 | 1,20 | 6,85 | 3,18 | 29,96 |
| l = | 0,99-59,29 | 0-3,77 | 0,84-8,73 | 0,66-15,47 | 4,11-23,34 | 0,66-4,06 | 2,10-27,09 | 1,40-11,05 | 12,89-87,96 |
| SELLES NORMALES | | | | | | | | | |
| $\bar{x}$ = | 2,62 | 0,69 | 0,98 | 2,81 | 4,48 | 0,98 | 2,87 | 1,66 | 12,61 |
| s = | 1,31 | 0,42 | 0,96 | 1,99 | 1,12 | 0,55 | 1,52 | 0,75 | 5,94 |
| l = | 0,74-3,68 | 0-3,58 | 0-1,27 | 0-6,08 | 0-6,08 | 0,68-1,29 | 0,52-4,87 | 0,89-3,20 | 2,04-22,98 |

*A.G.L. = acides gras libres ; M.G. = monoglycéride ; D.G. = diglycéride ; T.G. = triglycéride ; P.L. = phospholipide ; C.E. = cholestérol estérifié ; C.L. = cholestérol libre ; $\bar{x}$ = moyenne ; s = écart standard ; l = limite.*

A titre de comparaison, nous avons reproduit, à la fin de ce tableau, les résultats, obtenus à l'aide de notre méthode sur 18 sujets normaux.

Dans le tableau n° 26, figurent les chiffres obtenus par chromatographie en phase gazeuse de la fraction acides gras libres, provenant des extraits lipidiques fécaux des dix malades que nous venons d'étudier.

Ce tableau, comme le précédent, nous servira à définir quelques éléments de diagnostic.

TABLEAU N° XXVI

RESULTATS OBTENUS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE DES EXTRAITS D'ACIDES GRAS LIBRES FECAUX DES MALADES ETUDIES

| N° | Ac. Laurique ($C_{12}$ : 0) | Ac. Myristique ($C_{14}$ : 0) | Ac. Palmitique ($C_{16}$ : 0) | Ac. Stéarique ($C_{18}$ : 0) | Ac. Oléique ($C_{18}$ : 1) | Ac. Linoléique ($C_{18}$ : 2) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,5 | 7,0 | 36,6 | 16,1 | 26,2 | 8,6 |
| 2 | 1,1 | 14,7 | 50,2 | 24,6 | 6,4 | 3,0 |
| 3 | 0,9 | 2,5 | 18,1 | 64,9 | 13,6 | 0 |
| 4 | 1,8 | 6,7 | 32,7 | 18,7 | 38,4 | 1,7 |
| 5 | 0,3 | 2,5 | 32,8 | 39,9 | 24,5 | 0 |
| 6 | 0,6 | 3,4 | 15,9 | 59,4 | 18,1 | 2,6 |
| 7 | 5,6 | 21,1 | 29,7 | 12,2 | 27,0 | 4,4 |
| 8 | 1,4 | 14,3 | 32,9 | 35,0 | 16,4 | 0 |
| 9 | 6,4 | 7,7 | 37,4 | 17,2 | 28,3 | 3,0 |
| 10 | 7,3 | 7,7 | 39,9 | 14,6 | 26,4 | 4,1 |
| $\bar{x}$ = | 3,09 | 8,76 | 32,62 | 30,26 | 22,53 | 2,74 |
| s = | 2,75 | 6,10 | 10,00 | 19,07 | 9,03 | 2,64 |
| l = | 0,3-7,3 | 2,5-21,1 | 15,9-50,2 | 12,2-64,9 | 6,4-38,4 | 0-8,6 |

$\bar{x}$ = moyenne ; s = écart standard ; l = limite.

Sur chacun des deux tableaux, figurent les moyennes, les écarts standards et les valeurs limites, ces chiffres fournissant une amorce de discussion.

## 1 - CAS DES LIPIDES TOTAUX

Nous observons, sur l'ensemble de ces 10 observations, de très grandes variations des chiffres de lipides totaux qui vont de 12,89 à 87,96 g pour 100 g de selles sèches. Notons que les valeurs les plus élevées ont été obtenues sur des selles provenant de malades atteints d'affections néoplasiques.

## II - CAS DU CHOLESTEROL LIBRE ET DES PHOSPHOLIPIDES

A la lumière de ces quelques cas, il semble que la fraction cholestérol libre soit une de celles qui subissent le moins de perturbations en pathologie. En effet, l'écart standard enregistré est un des plus faible. Notons, cependant, que la moyenne est deux fois et demie supérieure à celle obtenue chez les sujets sains.
La fraction qui, dans notre étude, semble subir le moins de perturbations est l'écart standard, calculé pour ces dix cas pathologiques extrêmement différents. Les valeurs limites passent, cependant, de 0,66 à 4,06 g pour 100 g de selles sèches, alors que, chez les sujets sains, elles passaient de 0,68 à 1,29.
Notons, également, que les plus grandes variations, observées pour cette fraction lipidique fécale, l'ont été pour des affections pancréatiques pour lesquelles les valeurs limites se situent entre 0,98 et 4,06 g pour 100 g de selles sèches.

## III - CAS DU CHOLESTEROL ESTERIFIE ET DES GLYCERIDES

Le cholestérol estérifié et les glycérides subissent, sur l'ensemble des 10 observations, des variations voisines. Cependant, il semble que les affections pancréatiques soient celles qui engendrent la plus forte concentration de glycérides. Dans cette catégorie de lipides, les plus perturbés sont, par ordre décroissant, les triglycérides, puis les diglycérides et enfin, les monoglycérides. Cela est conforme à la théorie.

## IV - CAS DES ACIDES GRAS LIBRES

La fraction lipidique fécale la plus perturbée en pathologie est, incontestablement, celle des acides gras libres. Nous constatons, en effet, que pour les 10 cas étudiés, l'écart standard est de 20,24, les valeurs limites se situant entre 0,99 et 59,29 g pour 100 g de selles sèches. Rappelons que la même fraction, étudiée par notre méthode chez 18 sujets normaux, présente un écart standard de 1,31, les valeurs limites se situant entre 0,74 et 3,68 g pour 100 g de selles sèches. La chromatographie en phase gazeuse fait apparaître que ce sont les acides gras saturés à longue chaîne (acides stéarique et palmitique) qui subissent le plus de perturbations, ce qui est en rapport avec la théorie développée au début de cette thèse.

## § II - EXPLOITATION DIAGNOSTIQUE DES RESULTATS

Si nous entrons dans le détail des observations, nous constatons que les résultats de cette analyse peuvent se révéler d'un précieux secours dans le cadre d'une bonne orientation diagnostique.

### *1 - CAS DES AFFECTIONS NEOPLASIQUES*

C'est dans l'approche diagnostique des affections néoplasiques que ce type d'examen nous a fournit les renseignements les plus intéressants.

#### A - Eléments de diagnostic :

D'une façon générale, les pics du chromatogramme, représentatifs des différentes fractions lipidiques, sont tous symétriques, quelle que soit l'affection considérée. Cependant, dans l'ensemble de notre étude (33 chromatogrammes), nous avons pu constater une anomalie au niveau de l'un des pics, chez 4 malades qui font l'objet des observations n° 1, 2, 3 et 4. Or, 3 de ces 4 patients sont porteurs de néoplasies localisées au niveau d'un organe de la digestion. L'anomalie observée consiste en l'écrasement d'un des pics qui revêt une forme très particulière correspondant aux pics suivants (voir annexe) :

- observation n° 1 : pic n° 6 (triglycérides) ;
- observation n° 2 : pic n° 5 et 6 (acides gras libres et triglycérides) ;
- observation n° 3 : pic n° 5 (triglycérides) ;
- observation n° 4 : pic n° 5 (acides gras libres).

Il est intéressant de constater que cet aspect est constant pour les 4 observations quelle que soit la fraction lipidique concernée qui, au demeurant, est limitée aux triglycérides et aux acides gras libres. Notons que, au niveau des selles de ces malades, nous trouvons également, après hydrolyse chlorhydrique, l'artéfact lipidique dont nous avons parlé dans le chapître précédent. Notons, aussi, que nous observons chez ces quatre malades atteints d'affections d'origine très différente (pancréatique, intestinale, hépatique) une augmentation exceptionnelle des lipides fécaux totaux dont la concentration est, dans ces cas et seulement dans ceux-ci, supérieure à 50 g pour 100 g de selles sèches. Rappelons que la moyenne de la selle normale se situe aux alentours de 13 g, la limite supérieure étant fixée à 25 g.

B - Etude d'un cas idéal (observation n° 1) :

Au huitième jour de son hospitalisation, nous avons procédé à l'analyse des selles de cette malade. Elles étaient à pH = 6, de consistance moulée, de couleur blanc mastic. Le pourcentage en eau, calculé par notre méthode, était de 69,15 %. Le poids total des lipides, obtenu par pesée, était de 86,41 g pour 100 g de selles sèches. L'analyse de ces selles par chromatographie en couche mince nous a fourni les résultats que nous reproduisons sur le tableau suivant.

*TABLEAU N° XXV*
*TABLEAU REPRESENTATIF DE LA COMPOSITION DES GRAISSES FECALES EXCRETEES PAR LA MALADE N° I*

| FRACTIONS LIPIDIQUES | DANS 100 g DE SELLES SECHES EN G |
|---|---|
| Phospholipides | 4,06 |
| Monoglycérides | 2,59 |
| Diglycérides | 8,73 |
| Cholestérol libre | 8,56 |
| Acides gras libres | 47,96 |
| Triglycérides | 8,12 |
| Cholestérol estérifié | 6,39 |
| Graisses hydrolysées | 47,96 |
| Graisses neutres | 29,89 |
| Insaponifiable | 8,56 |

Nous constatons, à la lecture de ce tableau, que cette malade présente une concentration en lipides fécaux totaux très élevée : 86,41 g pour 100 g de selles sèches. Ce chiffre est près de 4 fois supérieur au résultat le plus élevé, obtenu, par la même méthode, chez un individu normal : 22,98 g.

Si nous considérons les différentes fractions lipidiques, nous constatons qu'elles sont toutes très supérieures aux limites normales mais que la moins élevée est celle des phospholipides (4,06 g). Cette dernière est, cependant, près de 4 fois supérieure à la limite normale, obtenue par cette méthode (1,29 g). La fraction la plus élevée est, incontestablement, celle des acides gras libres (47,96 g). Elle est 13 fois supérieure à la limite normale (3,68 g).

Le total des 3 fractions glycéridiques vient en deuxième position avec 19,44 g soit plus de 3 fois la limite supérieure normale (6,08 g).

Si nous considérons ces résultats d'un point de vue diagnostic, la très forte concentration en lipides fécaux totaux nous oriente vers une affection grave du pancréas, du foie ou de l'intestin. La couleur mastic des selles nous fait soupçonner une cholostase qui ne suffit pas, à elle seule, à expliquer la concentration record en acides gras libres. Il est donc probable qu'il s'y surajoute un trouble intestinal ou pancréatique ou les deux à la fois.
La très forte concentration en glycérides et, à un moindre degré, en cholestérol estérifié et en phospholipides, amène à penser que la rétention biliaire coexiste avec une affection pancréatique grave. Cela nous oriente, quant à l'étiologie de la cholostase, vers une possibilité de compression du choledoque par une hypertrophie importante de la tête du pancréas.

Rappelons que, pour cette malade, le diagnostic posé est celui de *tumeur néoplasique de la moitié supérieure de la tête du pancréas, entraînant une compression extrinsèque serrée du cholédoque.*

Remarque :

A titre de comparaison, nous avons jugé intéressant d'étudier les résultats obtenus par la méthode classique d'analyse des graisses fécales sur le même échantillon de selles. Nous trouvons, comme poids de lipides fécaux totaux, 75,3 g pour 100 g de selles sèches.

Ils se répartissent en 72,8 g de graisses hydrolysées (acides gras libres) exprimés en équivalents d'acide stéarique et 2,5 g de graisses neutres (phospholipides + monoglycérides + diglycérides + triglycérides + cholestérol estérifié) exprimés en équivalents de tristéarine.

Si nous considérons le chiffre des lipides totaux, bien qu'il soit inférieur au nôtre, il est assez élevé pour orienter le diagnostic, comme pour notre méthode, vers une affection grave du pancréas, du foie ou de l'intestin.

En revanche, la quantité insignifiante des graisses neutres ne permet absolument pas de soupçonner un trouble pancréatique.

L'orientation diagnostique serait donc, dans ce cas, en faveur d'une lithiase biliaire et non d'une compression du choledoque. La concentration record d'acides gras libres serait alors à mettre sur le compte de la coexistence avec ce trouble d'une affection grave, intestinale et non pancréatique.

A la lumière de ce cas précis, nous constatons que les résultats de la chromatographie en couche mince sont, du point de vue diagnostic, supérieurs à ceux de la méthode classique.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse des acides gras libres des selles de la malade n° I, nous fournit la composition centésimale suivante :

- acide laurique ($C_{12}$ : 0) ..... 5,5 %
- acide myristique ($C_{14}$ : 0) ..... 7,0 %
- acide palmitique ($C_{16}$ : 0) ..... 36,6 %
- acide stéarique ($C_{18}$ : 0) ..... 16,1 %
- acide oléique ($C_{18}$ : 1) ..... 26,2 %
- acide linoléique ($C_{18}$ : 2) ..... 8,6 %

Trois résultats attirent particulièrement notre attention : 36,6 % d'acide palmitique ($C_{16}$ : 0) ; 16,1 % d'acide stéarique ($C_{18}$ : 0) ; 26,2 % d'acide oléique ($C_{18}$ : 1).

Nous constatons que la concentration d'acide palmitique est double de celle d'acide stéarique, ce qui est en contradiction avec le fait que les acides gras sont d'autant mieux absorbés que leur chaîne est plus courte.

Cette anomalie apparente est due certainement au fait que les selles de cette malade sont très riches en acide oléique ; car, si on fait la somme des pourcentages des acides gras en $C_{18}$ on arrive à 50,9 % contre 36,6 % pour l'acide palmitique en $C_{16}$.

Ainsi, nous nous trouvons en présence d'une malade pour laquelle il existe une faible absorption des acides gras insaturés à longue chaîne. Or, nous l'avons vu, dans la partie théorique, ce trouble se rencontre au cours d'affections sévères du pancréas, touchant la biosynthèse des bicarbonates pancréatiques.

Les résultats de la chromatographie en phase gazeuse sont donc bien, dans le cas de cette observation, en accord avec ceux de la chromatographie en couche mince quant à l'orientation du diagnostic vers une affection grave du pancréas.

Le cas de la malade n° I nous fournit l'exemple d'une orientation diagnostique d'une précision quasi parfaite. Notons, cependant, qu'il s'agit là d'un cas idéal, les enseignements diagnostiques qu'il est possible de tirer de nos méthodes analytiques n'étant pas toujours aussi lumineux.

C - Etude de deux autres cas (observations n° 2 et 3) :

Pour les malades n° 2 et 3, la concentration en glycérides et en phospholipides est très inférieure à celle de la malade n° 1, alors qu'au contraire, le taux de cholestérol estérifié est supérieur. Cela pourrait peut-être signifier que l'hydrolyse de cette dernière fraction lipidique dépend d'avantage des enzymes intestinaux que pancréatiques. Nous enregistrons, même, pour le malade n° 2, la concentration la plus élevée de cholestérol estérifié de l'ensemble de nos observations. Ce chiffre (27,09 g) est 5 fois et demie supérieur à la limite normale. Il est alors permis de se demander si, dans ce cas, l'un des produits de métabolisme de la virole néoplasique n'induirait pas la réestérification partielle du cholestérol par des acides gras libres présents dans l'intestin. Le fait que nous trouvions, au niveau de la chromatographie en phase gazeuse, la concentration la plus faible d'acides gras en $C_{18}$ de l'ensemble de nos observations pourrait être en faveur de cette hypothèse.

Ainsi, à la lumière de ces 3 observations, il semble que la coexistence d'un pic chromatographique anormal et d'une concentration de lipides fécaux totaux supérieure à 50 g pour 100 g de selles sèches soit en faveur d'une affection néoplasique localisée au niveau d'un des organes de la digestion. Ainsi, pour le malade n° 3, ce type d'analyse aurait permis d'orienter le diagnostic vers une néoplasie qu'aucun des examens cliniques ou paracliniques classiques n'avait permis de soupçonner.

D - Etude d'un cas particulier (observation n° 4) :

L'étude du cas n° 4, nous oblige à nuancer notre jugement diagnostic. En effet, les résultats chromatographiques, obtenus sur les selles de ce malade, sont en tous points comparables à ceux de nos patients atteints de néoplasies, qu'il s'agisse de l'allure de la courbe, de la très forte concentration en lipides fécaux totaux ou de l'artéfact. Or, le diagnostic posé est celui de *pancréatite oedémateuse*. Nous devons donc envisager, pour cette observation, trois hypothèses :

- la première consisterait à penser que nous nous trouvons en présence d'une néoplasie débutante dont la révélation chromagraphique serait en avance sur les autres formes de manifestations ;
- la deuxième nous amènerait à considérer ce cas comme une exception. Il existerait alors, dans des circonstances particulières, des fractions lipidiques fécales dont le comportement chromatographique serait identique à celui observé lors de néoplasies ;
- la troisième hypothèse, la plus négative, ramènerait à une manifestation pure et simple du hasard, la similitude de ces quatre observations, ce qui nous paraît peu vraisemblable dans la mesure où la totalité de notre étude porte sur trente trois chromatogrammes.

*II - CAS DES AFFECTIONS NON NEOPLASIQUES*

A - Eléments de diagnostic :

Il ressort de notre étude, qu'en l'absence de néoplasie, la concentration en lipides fécaux totaux est très inférieure à celle observée en présence de ce type d'affection. De même, les pics obtenus par chromatographie en couche mince sont bien symétriques.

B - Etude d'un cas idéal (observation n° 5) :

Rappelons que, ce malade est un gastrectomisé, porteur d'une tuberculose pulmonaire en activité et atteint d'une atrophie villositaire post-gastrectomie avec malabsorption, correspondant vraisemblablement à une maladie coeliaque de l'adulte, de révélation tardive.
Rappelons également que les deux hypothèses de départ étaient d'une part une stéatose avec cirrhose et d'autre part une métaplasie ayant colonisé le foie.

Au huitième jour de son hospitalisation, nous avons procédé à l'analyse des selles de ce malade. Elles étaient à pH = 6, de consistance pâteuse, de couleur ocre. Le pourcentage en eau calculé par notre méthode étant de 79,85 %. Le poids total de lipides obtenu par pesée étant de 43,32 g pour 100 g de selles sèches.

L'analyse de ces selles, par chromatographie en couche mince, nous a fourni les résultats que nous reproduisons sur le tableau suivant.

*TABLEAU N° XXVI*
*TABLEAU REPRESENTATIF DE LA COMPOSITION DES GRAISSES FECALES EXCRETEES PAR LE MALADE N° V*

| FRACTIONS LIPIDIQUES | DANS 100 g DE SELLES SECHES EN G | COMPOSITION CENTESIMALE EN % |
|---|---|---|
| Phospholipides | 3,38 | 7,8 |
| Monoglycérides | 0,57 | 1,3 |
| Diglycérides | 3,20 | 7,4 |
| Cholestérol libre | 4,07 | 9,4 |
| Acides gras libres | 22,74 | 52,5 |
| Triglycérides | 1,04 | 2,4 |
| Cholestérol estérifié | 8,32 | 19,2 |
| Graisses hydrolysées | 22,74 | 52,5 |
| Graisses neutres | 16,51 | 38,1 |
| Insaponifiable | 4,07 | 9,4 |

L'analyse, par chromatographie en phase gazeuse des acides gras libres de ces selles, nous fournit la composition centésimale suivante :

- acide laurique ($C_{12}$ : 0) ..... 0,3 %
- acide myristique ($C_{14}$ : 0) ..... 2,5 %
- acide palmitique ($C_{16}$ : 0) ..... 32,8 %
- acide stéarique ($C_{18}$ : 0) ..... 39,9 %
- acide oléique ($C_{18}$ : 1) ..... 24,5 %
- acide linoléique ($C_{18}$ : 2) ..... 0 %

La concentration en lipides fécaux totaux (43,32 g), bien qu'assez élevée, est très en dessous de la concentration la plus basse que nous ayons obtenue pour une néoplasie certifiée (70,37 g).
Cela nous permet, en première approximation, d'orienter la discussion de départ vers une stéatose plutôt qu'une métaplasie. Si nous considérons les différentes fractions lipidiques, nous constatons que, dans l'ensemble, elles ne sont pas trop éloignées des limites normales, les glycérides se situant même à l'intérieur de ces limites. En revanche, les acides gras libres qui représentent 52,5 % de la totalité des lipides fécaux ont une concentration en gramme (22,74 g), six fois supérieure à la limite normale.

Le taux normal des différentes fractions de glycérides nous permet d'éliminer les pathologies du pancréas. L'orientation se fera donc vers une affection grave du foie ou de l'intestin, voir une association des deux, en principe, non néoplasiques. Cela est bien en accord avec le diagnostic final de *maladie coeliaque de l'adulte avec stéatose hépatique*.

Notons que, contrairement à ce que l'on aurait pu en attendre, la gastrectomie totale ne semble pas avoir influé sur l'hydrolyse des différentes fractions de glycérides ; nous observons également cela, à propos du cas n° 9.
Les troubles que l'on peut noter au niveau de l'hydrolyse des glycérides chez d'autres gastrectomisés, par exemple le cas n° 10, ne doivent donc pas être attribués au seul fait de cette intervention.

Le malade n° 5 constitue, pour nous, un cas particulièrement intéressant. En effet, l'ensemble et l'accumulation des troubles dont il est atteint le désignent pour avoir une concentration maximum en lipides fécaux totaux. Or, nous constatons que même dans cet exemple, ce chiffre plafonne à 43,32 g soit très en dessous des 50 g que nous avons fixés à la présomption d'une néoplasie.

C - Etude de cinq autres cas (observations n° 6, 7, 8, 9 et 10) :

La malade n° 6 nous semble intéressante. En effet, les différents examens effectués sur elle n'ont pas permis d'objectiver une pathologie organique évidente, l'ensemble des manifestations fonctionnelles ayant été relié à son état neuro-psychique et à un petit problème vésiculaire.

Or, cette personne manifeste une stéatorrhée assez importante : 38,2 g de lipides totaux, répartis de façon assez homogène entre les différentes graisses. Il est alors permis de se demander si cette stéatorrhée ne serait pas due à l'action combinée du diabète et de l'ingestion de sulfamides hypoglycémiants. L'augmentation homogène de l'ensemble des fractions lipidiques serait alors le fait de la conjonction d'un ensemble de troubles imputables, à part égale, à la maladie et à son traitement : accélération du transit ; modification du pH et de la flore intestinale, entraînant une diminution d'activité des enzymes pancréatiques ou intestinaux ; baisse de la concentration d'A.T.P. au niveau de la cellule intestinale limitant l'absorption des acides gras saturés à longue chaîne.

En ce qui concerne les cas n° 7 et 8, nous les avons sélectionnés car les résultats, enregistrés à leur niveau, restent, pour le n° 7, dans la limite du normal et, pour le n° 8, très proches. L'analyse chromatographique des selles du malade n° 7 a été faite en même temps que les examens de contrôle, effectués après 5 mois de régime et de traitement. Elle confirme que la normalisation des autres examens biologiques est bien en relation avec une assimilation normale des graisses. Quant au n° 8, nous l'avons choisi pour montrer la finesse de ce type d'analyse coprologique. En effet, si nous considérons la concentration des lipides totaux, elle demeure dans les limites de la normale de même que les différents ensembles constituant les graisses hydrolysées, les graisses neutres ou l'insaponifiable. En revanche, si on considère les fractions, chacune séparément, on constate qu'elles sont toutes normales à deux exceptions près : les diglycérides de concentration près de 4 fois supérieure à la limite normale et le cholestérol estérifié, près de 2 fois supérieure.

Bien que nous ne puissions, encore, dans l'état actuel de nos connaissances, tirer un enseignement diagnostic de l'interprétation de ces deux anomalies, il est important de constater, grâce à nos techniques, qu'elles existent.

Enfin, nous avons sélectionné, pour notre étude, les cas n° 9 et 10 car il s'agit, comme le n° 5, de gastrectomisés. Or, il est classique de considérer qu'après ce type d'intervention, on observe une stéatorrhée d'importance variable qui porte sur les fractions de lipides estérifiés ainsi que sur les acides gras saturés à longues chaînes.

Au niveau de nos observations, nous constatons qu'en effet les acides gras à longue chaîne sont difficilement absorbés, mais que les insaturés ne le sont pas beaucoup plus que les saturés. Quant aux lipides estérifiés, il semble qu'au niveau des selles de ces malades, la fraction cholestérol soit constamment augmentée.
En revanche, les autres fractions estérifiées et, en particulier, les glycérides subissent de grandes variations. Leur augmentation peut donc difficilement être attribuée au seul fait de la gastrectomie.

CONCLUSION :

Ces quelques exemples donnent un aperçu des possibilités offertes par nos techniques, face à la complexité de l'interprétation diagnostique d'une analyse de lipides fécaux. Jusqu'à présent, les méthodes utilisées se contentaient de résultats très sommaires, ne pouvant donner qu'une idée très grossière et, à la limite, inexacte de l'état des fonctions de la digestion.

Nous proposons, pour notre part, une approche diagnostique plus précise, plus fine mais aussi plus difficile. Car, si les paramètres sont plus nombreux et plus sensibles, ils sont aussi moins aisés à interpréter. De même, ils deviennent plus vulnérables aux interférences d'origines diverses : alimentaires, médicamenteuses ou autres. C'est ainsi que l'on ignore tout de l'importance des alcools courants et en particulier du vin, sur l'absorption intestinale des lipides.
Il en est de même de l'influence des médicaments usuels dont on peut raisonnablement penser que les perturbations qu'ils engendrent, puissent continuer à s'exercer plusieurs jours après l'arrêt de la médication. Il existe donc un certain nombre d'incertitudes qui doit nous inciter à la plus grande prudence quant à l'interprétation à donner aux chiffres obtenus.

Nous pensons que, dans un premier temps, il faut se contenter d'apprécier des tendances qu'une expérimentation statistique sérieuse permettra de préciser.
Mais d'ores et déjà, nous sommes convaincus de disposer d'un outil de travail aux performances très supérieures à celles des techniques classiquement utilisées.

# CONCLUSIONS GENERALES

La stéatorrhée est un trouble relativement fréquent, dont l'exploration biochimique revêt une grande importance en pathologie digestive. Elle permet, en un seul examen, de juger de l'état fonctionnel des organes fondamentaux de la digestion que sont l'estomac, le foie, le pancréas, l'intestin grêle et le gros intestin. Les lipides sont, en effet, de tous les aliments, les seuls dont l'assimilation digestive nécessite le parfait fonctionnement de l'ensemble de ces organes. Un trouble fonctionnel de l'un quelconque d'entre eux entraîne une accumulation de graisses dans les matières fécales.

Notre travail porte sur la mise au point et l'expérimentation de méthodes modernes d'analyses coprochimiques permettant une exploration rationnelle et précise des stéatorrhées.

Dans une première partie, nous avons exposé l'ensemble des données récentes concernant les mécanismes physiopathologiques qui président à l'assimilation des lipides, ainsi que les méthodes d'analyse des stéatorrhées.

*Le premier chapitre* traite, plus particulièrement, des conceptions modernes de la biochimie de la digestion et de l'absorption des graisses alimentaires que nous avons envisagées sous l'angle :

- de différentes actions des sécrétions digestives sur les lipides (*section 1*) ;
- des mécanismes physicochimiques de la dégradation enzymatique des lipides et de leur solubilisation (*section 2*) ;
- des théories actuelles sur l'absorption des lipides et principalement du rôle capital joué par les monoglycérides-2, seule forme moléculaire capable de traverser la barrière intestinale (*section 3*) ;

- du devenir des différentes classes de lipides, pendant et après la traversée de la paroi intestinale. Nous avons rappelé la resynthèse des triglycérides qui ont contribué à la formation de chylomicrons (*section 4*).

*Le second chapître* rassemble les données sur l'aspect pathologique de l'absorption des graisses alimentaires.

- *Dans une première section,* nous avons étudié le syndrome de malassimilation qui peut être dû aussi bien à une insuffisance qu'à un excès de certaines secrétions, accompagnées ou non de modifications de la flore, phénomènes modifiés par des atteintes de la muqueuse ou de la circulation du grêle.
- *Dans une deuxième section,* nous avons analysé les conséquences physiopathologiques au niveau de l'équilibre organique et des selles. Nous avons montré qu'une stéatorrhée pouvait être caractéristique des différentes formes étiologiques du syndrome de malassimilation. Nous avons insisté sur le fait que l'exploration de cette stéatorrhée devait reposer sur la détermination quantitative des fractions lipidiques fécales suivantes : phospholipides, glycérides, cholestérol libre et estérifié et acides gras libres.
- *Dans une troisième section,* nous avons rassemblé les principales méthodes analytiques permettant d'analyser les lipides fécaux et discuter de leurs avantages respectifs et de leurs limites. Certaines de ces méthodes ne déterminent que la teneur globale en lipides (KUMAGAWA), d'autres font appel à des techniques titrimétriques permettant d'apprécier le pourcentage des graisses hydrolysées par rapport aux graisses neutres (WARTER et METAIS). Certaines ne se différencient des autres que par le choix de solvant moins dangereux que l'éther.

° ° °

Dans une deuxième partie, nous avons rassemblé nos travaux personnels qui sont centrés sur les problèmes suivants :

- dosage de l'eau et des fractions des lipides (chapître 1) ;
- analyse détaillée des lipides par chromatographie (chapître 2) ;
- application de nos méthodes à l'étude de quelques cas cliniques (chapître 3).

*Le premier chapître* traite du dosage de l'eau et de l'extraction des lipides fécaux. La connaissance du pourcentage d'eau est un paramètre cardinal de l'étude de la stéatorrhée, les résultats étant exprimés par rapport à un poids de selles sèches. Par ailleurs, l'extraction des lipides fécaux est très difficile à réaliser de manière quantitative, étant donné la nature particulière de la matière.

- *Dans une première section*, nous avons développé une technique originale permettant le dosage de l'eau, simultanément à une extraction quantitative des graisses fécales, grâce à une méthode d'entraînement, par l'hexane, à l'ébullition, dans un appareil de DEAN et STARK. En fin d'extraction, la totalité de l'eau accumulée dans une burette graduée, est mesurée volumétriquement, tandis que, dans le ballon, reste une suspension organique contenant tous les lipides des selles. Cette méthode présente des avantages incontestables sur le plan du rendement et du confort de l'opérateur. Contrairement aux techniques habituelles d'analyse, elle n'entraîne pas d'artéfact dans la mesure des fractions lipidiques. Cependant, la température d'extraction (79°C) conduit à des modifications au niveau des liaisons. De ce fait, nous avons préféré une méthode à froid qui fait l'objet de la section suivante.
- *Dans une deuxième section*, nous avons décrit une technique d'extraction à froid dont le principe est le suivant : on disperse la selle dans un mélange solvants chloroforme-méthanol (2-1), permettant une solubilisation simultanée de l'eau et des lipides. L'eau est dosée par la méthode de KARL FISCHER et les lipides sont extraits sans modification de leur état initial. La méthode est simple et reproductible, la selle étant dispersée dans le solvant par un traitement aux ultra-sons.

Le deuxième chapître développe les différentes méthodes permettant l'exploration des lipides, extraits au cours des manipulations précédentes.

- *Dans une première section*, nous avons décrit un protocole permettant d'appliquer la chromatographie en couche mince à la séparation des lipides fécaux, le dosage des différentes fractions étant réalisé par réflectométrie, après révélation au phosphomolybdate à chaud.

- *Dans une deuxième section,* nous avons appliqué la chromatographie en phase gazeuse à la détermination de la longueur et du degré de saturation des acides gras des selles, préalablement isolées par chromatographie en couche mince préparative. Dans la discussion qui termine ce chapître, nous avons comparé les résultats obtenus par nos méthodes, à ceux des autres techniques. Nous avons montré que, si l'acide stéarique était de loin l'acide gras le plus concerné dans les stéatorrhées, il était délicat de rapporter tous les résultats à ce seul lipide, lorsque ceux-ci étaient exprimés en équivalents acides. En effet, dans certaines conditions, des équivalents pouvaient correspondre à des acides de condensation plus faible et de ce fait donner des résultats anormaux ou inexacts.

Le troisième chapître est consacré à l'étude et à la discussion d'un certain nombre d'observations. Chez des sujets atteints de diverses affections digestives, nous avons analysé la stéatorrhée par nos techniques, comparativement à celle de MERLAND-COUTHURES, dérivée de celle de VAN DEN KAMER.

- *Dans une première section,* nous avons étudié les dossiers cliniques de ces malades.
- *Dans une deuxième section,* nous avons regroupé les différentes discussions concernant les exemples étudiés. Nous avons pu montrer que, dans certains cas de pathologies cancéreuses digestives, on pouvait mettre en évidence une fraction lipidique de comportement anormal, entraînant des artéfacts dans les méthodes d'analyse.

° ° °

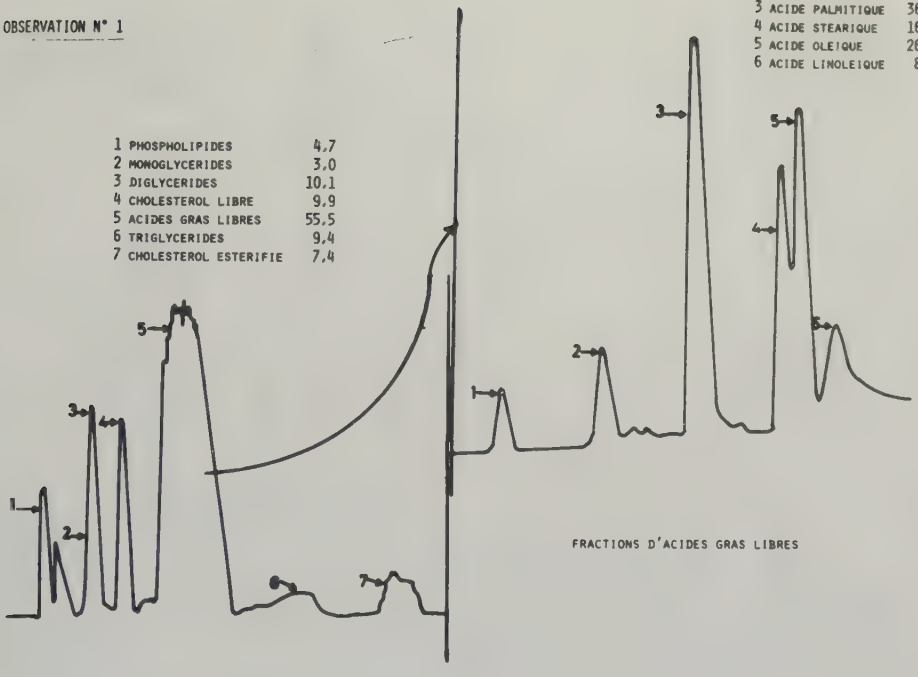
# ANNEXE

CHROMATOGRAMMES DES DIFFERENTES FRACTIONS LIPIDIQUES FECALES OBTENUS PAR ANALYSE DES SELLES DES MALADES CORRESPONDANTS AUX OBSERVATIONS N° 1 A 10

OBSERVATION N° 1

| | |
|---|---|
| 1 PHOSPHOLIPIDES | 4,7 |
| 2 MONOGLYCERIDES | 3,0 |
| 3 DIGLYCERIDES | 10,1 |
| 4 CHOLESTEROL LIBRE | 9,9 |
| 5 ACIDES GRAS LIBRES | 55,5 |
| 6 TRIGLYCERIDES | 9,4 |
| 7 CHOLESTEROL ESTERIFIE | 7,4 |

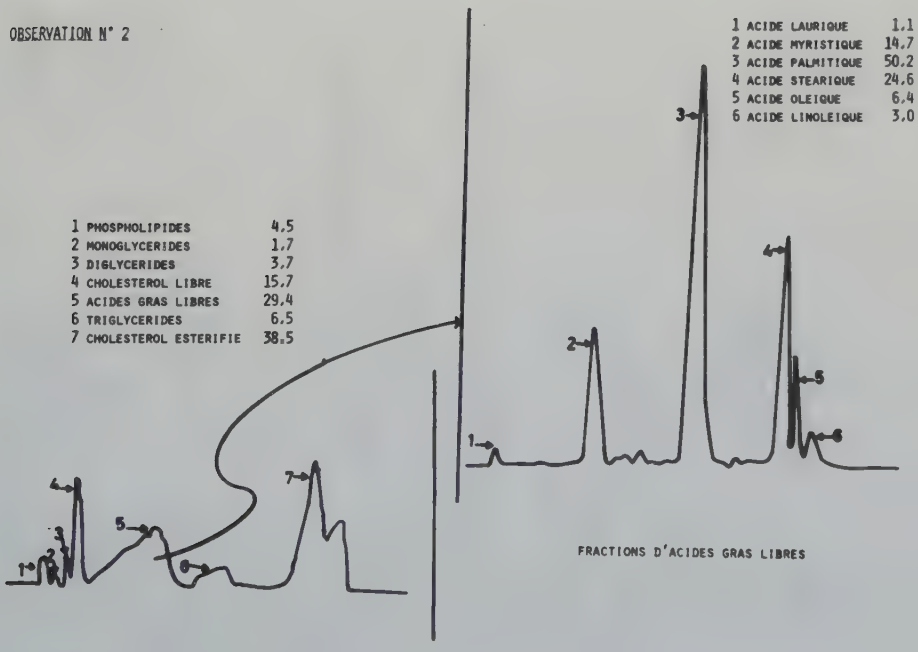
| | |
|---|---|
| 1 ACIDE LAURIQUE | 5,5 |
| 2 ACIDE MYRISTIQUE | 7,0 |
| 3 ACIDE PALMITIQUE | 36,6 |
| 4 ACIDE STEARIQUE | 16,1 |
| 5 ACIDE OLEIQUE | 26,2 |
| 6 ACIDE LINOLEIQUE | 8,6 |



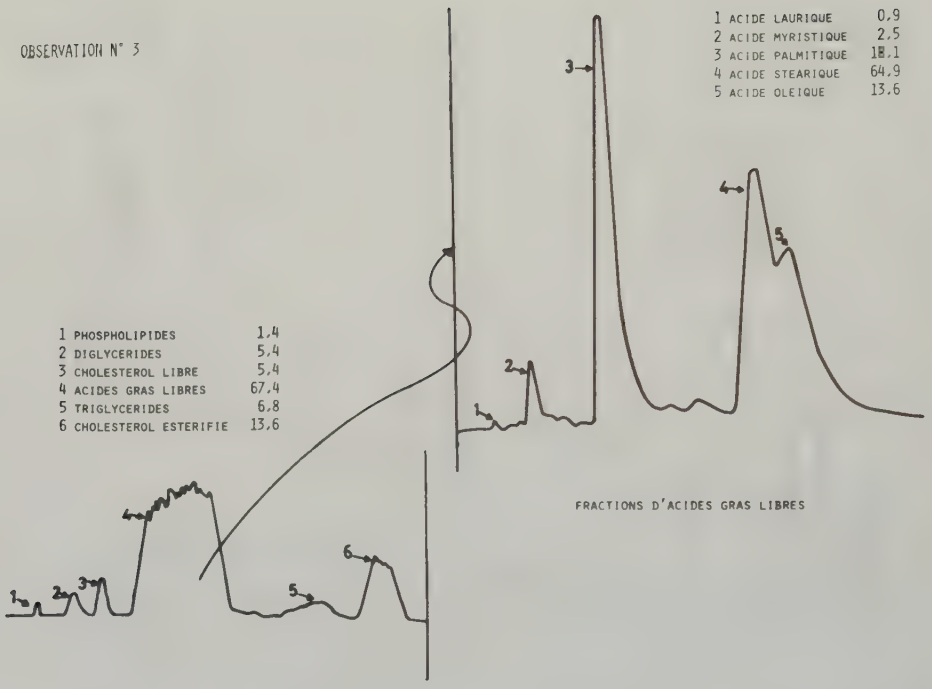

OBSERVATION N° 2

| | |
|---|---|
| 1 PHOSPHOLIPIDES | 4,5 |
| 2 MONOGLYCERIDES | 1,7 |
| 3 DIGLYCERIDES | 3,7 |
| 4 CHOLESTEROL LIBRE | 15,7 |
| 5 ACIDES GRAS LIBRES | 29,4 |
| 6 TRIGLYCERIDES | 6,5 |
| 7 CHOLESTEROL ESTERIFIE | 38,5 |

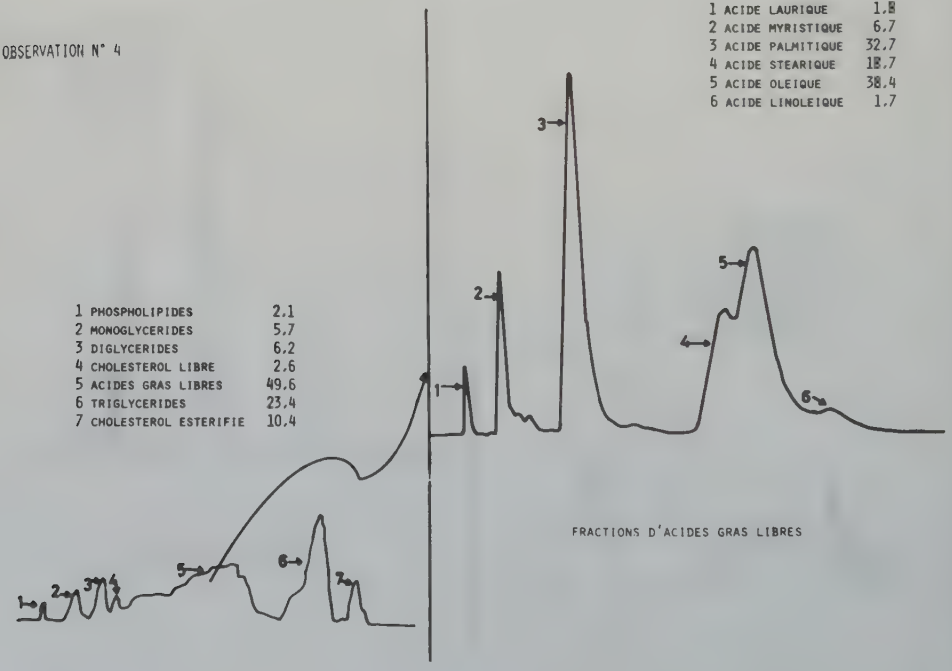
| | |
|---|---|
| 1 ACIDE LAURIQUE | 1,1 |
| 2 ACIDE MYRISTIQUE | 14,7 |
| 3 ACIDE PALMITIQUE | 50,2 |
| 4 ACIDE STEARIQUE | 24,6 |
| 5 ACIDE OLEIQUE | 6,4 |
| 6 ACIDE LINOLEIQUE | 3,0 |



OBSERVATION N° 3

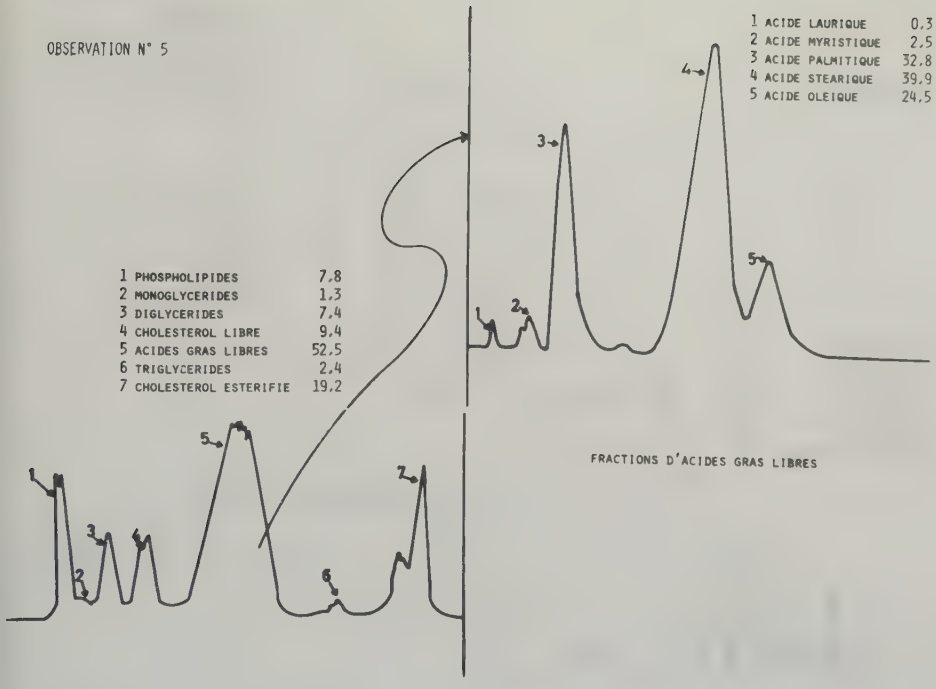



OBSERVATION N° 4



OBSERVATION N° 5

| | |
|---|---|
| 1 PHOSPHOLIPIDES | 7,8 |
| 2 MONOGLYCERIDES | 1,3 |
| 3 DIGLYCERIDES | 7,4 |
| 4 CHOLESTEROL LIBRE | 9,4 |
| 5 ACIDES GRAS LIBRES | 52,5 |
| 6 TRIGLYCERIDES | 2,4 |
| 7 CHOLESTEROL ESTERIFIE | 19,2 |

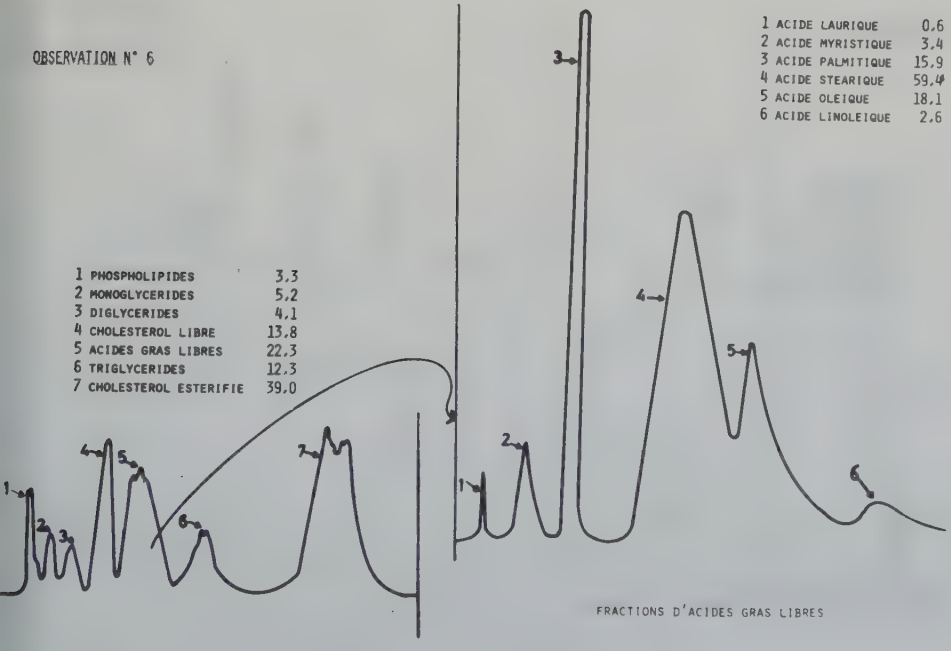


| | |
|---|---|
| 1 ACIDE LAURIQUE | 0,3 |
| 2 ACIDE MYRISTIQUE | 2,5 |
| 3 ACIDE PALMITIQUE | 32,8 |
| 4 ACIDE STEARIQUE | 39,9 |
| 5 ACIDE OLEIQUE | 24,5 |

FRACTIONS D'ACIDES GRAS LIBRES

OBSERVATION N° 6

| | |
|---|---|
| 1 PHOSPHOLIPIDES | 3,3 |
| 2 MONOGLYCERIDES | 5,2 |
| 3 DIGLYCERIDES | 4,1 |
| 4 CHOLESTEROL LIBRE | 13,8 |
| 5 ACIDES GRAS LIBRES | 22,3 |
| 6 TRIGLYCERIDES | 12,3 |
| 7 CHOLESTEROL ESTERIFIE | 39,0 |

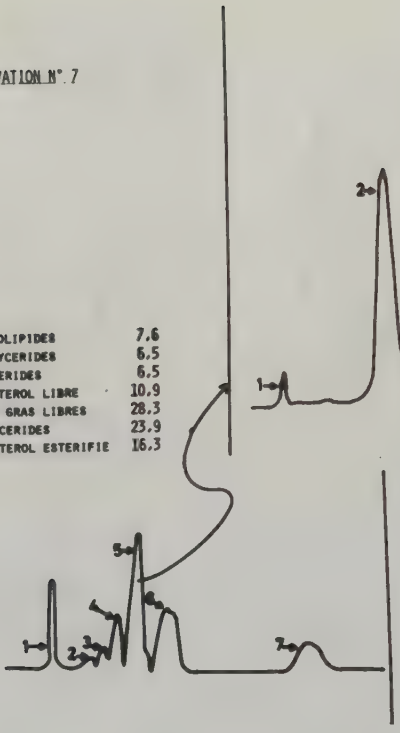


| | |
|---|---|
| 1 ACIDE LAURIQUE | 0,6 |
| 2 ACIDE MYRISTIQUE | 3,4 |
| 3 ACIDE PALMITIQUE | 15,9 |
| 4 ACIDE STEARIQUE | 59,4 |
| 5 ACIDE OLEIQUE | 18,1 |
| 6 ACIDE LINOLEIQUE | 2,6 |

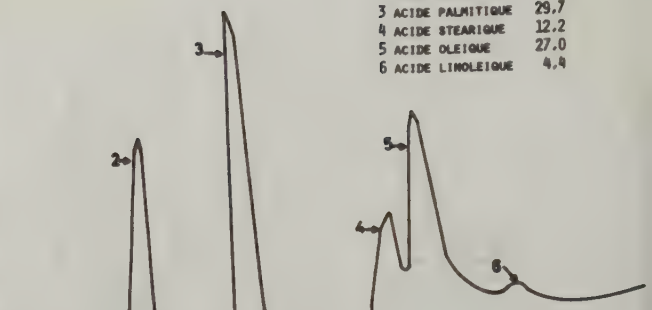
FRACTIONS D'ACIDES GRAS LIBRES

OBSERVATION N° 7

| | |
|---|---|
| 1 PHOSPHOLIPIDES | 7.6 |
| 2 MONOGLYCERIDES | 6.5 |
| 3 DIGLYCERIDES | 6.5 |
| 4 CHOLESTEROL LIBRE | 10.9 |
| 5 ACIDES GRAS LIBRES | 28.3 |
| 6 TRIGLYCERIDES | 23.9 |
| 7 CHOLESTEROL ESTERIFIE | 16.3 |



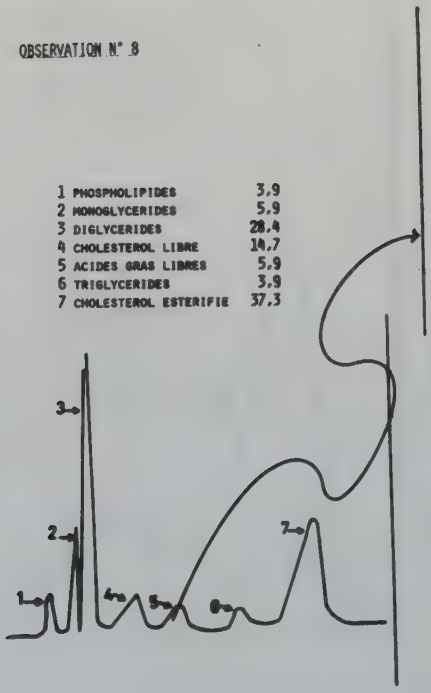
| | |
|---|---|
| 1 ACIDE LAURIQUE | 5.6 |
| 2 ACIDE MYRISTIQUE | 21.1 |
| 3 ACIDE PALMITIQUE | 29.7 |
| 4 ACIDE STEARIQUE | 12.2 |
| 5 ACIDE OLEIQUE | 27.0 |
| 6 ACIDE LINOLEIQUE | 4.4 |



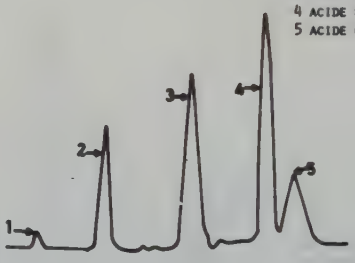
FRACTIONS D'ACIDES GRAS LIBRES

OBSERVATION N° 8

| | |
|---|---|
| 1 PHOSPHOLIPIDES | 3.9 |
| 2 MONOGLYCERIDES | 5.9 |
| 3 DIGLYCERIDES | 28.4 |
| 4 CHOLESTEROL LIBRE | 14.7 |
| 5 ACIDES GRAS LIBRES | 5.9 |
| 6 TRIGLYCERIDES | 3.9 |
| 7 CHOLESTEROL ESTERIFIE | 37.3 |



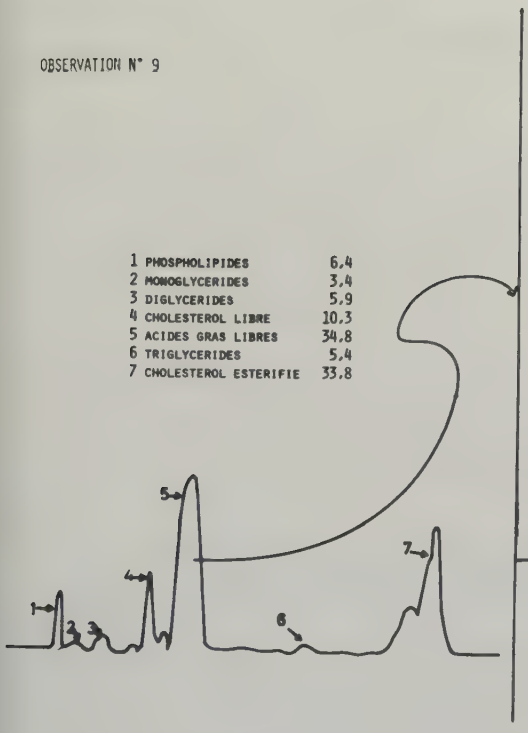
| | |
|---|---|
| 1 ACIDE LAURIQUE | 1.4 |
| 2 ACIDE MYRISTIQUE | 14. |
| 3 ACIDE PALMITIQUE | 32. |
| 4 ACIDE STEARIQUE | 35. |
| 5 ACIDE OLEIQUE | 16. |



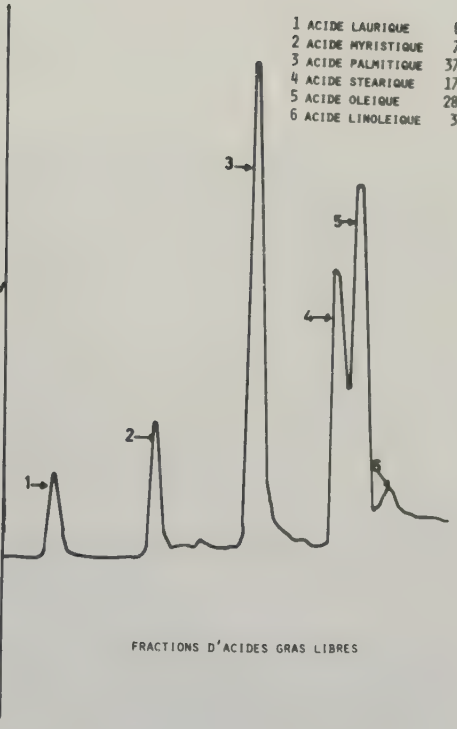
FRACTIONS D'ACIDES GRAS LIBRES

OBSERVATION N° 9

| | | |
|---|---|---|
| 1 | PHOSPHOLIPIDES | 6,4 |
| 2 | MONOGLYCERIDES | 3,4 |
| 3 | DIGLYCERIDES | 5,9 |
| 4 | CHOLESTEROL LIBRE | 10,3 |
| 5 | ACIDES GRAS LIBRES | 34,8 |
| 6 | TRIGLYCERIDES | 5,4 |
| 7 | CHOLESTEROL ESTERIFIE | 33,8 |



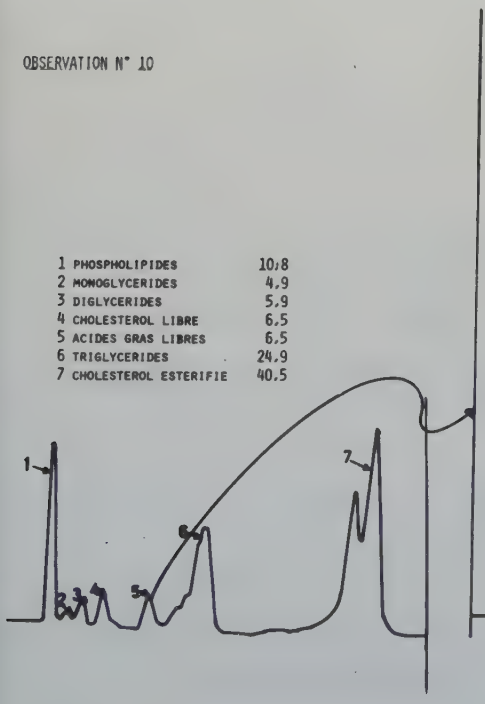

| | | |
|---|---|---|
| 1 | ACIDE LAURIQUE | 6,4 |
| 2 | ACIDE MYRISTIQUE | 7,7 |
| 3 | ACIDE PALMITIQUE | 37,4 |
| 4 | ACIDE STEARIQUE | 17,2 |
| 5 | ACIDE OLEIQUE | 28,3 |
| 6 | ACIDE LINOLEIQUE | 3,0 |



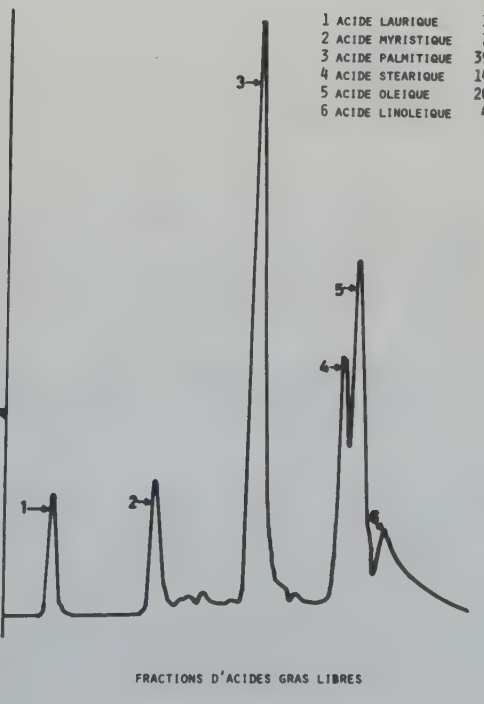

FRACTIONS D'ACIDES GRAS LIBRES

OBSERVATION N° 10

| | | |
|---|---|---|
| 1 | PHOSPHOLIPIDES | 10,8 |
| 2 | MONOGLYCERIDES | 4,9 |
| 3 | DIGLYCERIDES | 5,9 |
| 4 | CHOLESTEROL LIBRE | 6,5 |
| 5 | ACIDES GRAS LIBRES | 6,5 |
| 6 | TRIGLYCERIDES | 24,9 |
| 7 | CHOLESTEROL ESTERIFIE | 40,5 |




| | | |
|---|---|---|
| 1 | ACIDE LAURIQUE | 7,3 |
| 2 | ACIDE MYRISTIQUE | 7,7 |
| 3 | ACIDE PALMITIQUE | 39,9 |
| 4 | ACIDE STEARIQUE | 14,6 |
| 5 | ACIDE OLEIQUE | 26,4 |
| 6 | ACIDE LINOLEIQUE | 4,1 |




FRACTIONS D'ACIDES GRAS LIBRES

## REFERENCES


01 - AILHAUD G., SAMUEL D., LAZDUNSKI M., DESNUELLE P. - Quelques observations sur le mode d'action de la monoglycéride transacyclase et de la diglycéride transacyclase de la muqueuse intestinale. Biochim. Biophys. Acta, 1964, 84, 643-664.

02 - AILHAUD G., SARDA L., DESNUELLE P. - Formation d'hydroxamates d'acides gras à longues chaînes par une fraction subcellulaire de muqueuse intestinale. Biochim. Biophys. Acta, 1962, 59, 261-272.

03 - BAILANGER J. - Coprologie parasitaire et fonctionnelle. Drouillard Ed., Bordeaux 1965.

04 - BARRETT C.B., DALLAS M.S.J., PADLEY F.B. - The quantitative analysis of triglyceride mixtures by thin layer chromatography on silica impregnated whith silver nitrate. J. Am. Oil Chem. Soc., 1963, 40, 580-584.

05 - BENNET CLARK S. - In vivo measurement of regional intestinal absorption capacities : application to triolein absorption in the rat. (Abstract). Fed. Proc., 1972, 31, 299.

06 - BLOMSTRAND R. - Studies on the intestinal absorption of fat in normal adults and in non tropical sprue with carbon labelled oleic acid and palmitic acid. Acta Medica Scand., 1955, 152, 129-138.

07 - BONFILS S., BERNIER S.-J. - Physiologie gastrique. Encycl. Med. Chir., 9000 E.K. 10, Laffont Ed., Paris, 1964.

08 - BONFILS S., MIGNON M. - Aspects actuels des recherches sur la physiologie du carrefour duodénal. Rev. prat., 1973, 23, n° 21, p. 1879.

09 - BORGSTRÖM B. - Digestion and absorption of fats. Gastroenterology, 1962, 43, 216-219.

10 - BORGSTRÖM B. - Influence of bile salt, pH, and time on the action of pancreatic lipase : physiological implications. J. Lipid Res., 1964, 5, 522-531.

11 - BORGSTRÖM B. - Partition of lipids between emulsified oil and micellar phases of glyceride-bile salt dispersions. J. Lipid Res., 1967, 8, 598-608.

12 - BORGSTRÖM B. - Digestion, absorption and transport of fats (in : Margarin to day, COENEN J.W.E., FERON R., MOSSEL D.A.A., Eds, LEIDEH, 1970, E.J. Brill, 15-21.

13 - BOWERS M.A., LUND P.K., MATHIES J.C. - A rapid, reliable procedure for the determination of total fecal lipids, with observations on the composition of the lipids excreted by human subjects in normal and pathological stades. Clin. Chim. Acta, 1964, 2, 334-347.

14 - BRECKENRIDGE W.C., KUKSIS A. - Specific distribution of short-chain fatty acids in molecular distillates of bovine milk fat. J. Lipid Res., 1968, 9, 388-393.

15 - BRECKENRIDGE W.C., MARAI L., KUKSIS A. - Triglyceride structure of human milk fat. Can. J. Biochem., 1969, 47, 761-769.

16 - BRENNER M., NIEDERWIESER A. - Experentia (Basel) 16, 378 (160).

17 - BRINDLEY D.N., HÜBSCHER G. - The intracellular distribution of the enzymes catalysing the biosynthesis of glycerides in the intestinal mucosa, Biochim. Biophys. Acta, 1965, 106, 495-509.

18 - BRINDLEY D.N., HÜBSCHER G. - The effect of chain length on the activation and subsequent incorporation of fatty acids into glycerides by the small intestinal mucosa. Biochim. Biophys. Acta, 1966, 125, 92-105.

19 - CANAL J., DELATTRE J., GIRARD M.L. - Acquisitions nouvelles dans le dosage des lipides totaux du sérum : description d'une méthode néphélémétrique. Ann. Biol. Clin., 1973, 31, 39-45.

20 - CHADWICK V.S., MODHA K., DOWLING R.H. - Hyperoxaluria with ileal dysfonction (Letter to editor) N. Engl. J. Med., 1974, 290, 108.

21 - CHABROL E., CHARONNAT R. - Une nouvelle réaction pour l'étude des lipides. L'oléidémie. Press. Méd., 1937, 45, 1713-1714.

22 - CLEMENT G. - La digestion et l'absorption des graisses. J. Physiol., Paris, 1964, 56, 92-111.

23 - CLEMENT G., CLEMENT J., BEZARD J. - Action of human pancreatic lipase on synthetic mixed symetrical triglycerides of long chain acids and butyric acid. Biochem. Biophys. Res. Commun, 1962, 8, 238-242.

24 - CLEMENT J., BEZARD J., COUREL E. - Remaniements effectués au niveau digestif et au niveau du tissu adipeux de la structure des triglycérides après administration au rat d'un régime à base d'huile de Coprah. Biochim. Biophys. Acta, 1965, 106, 25-33.

25 - COHEN M., MORGAN R.G.H., HOFMANN A.F. - Lipolytic activity of human gastric and duodenal juice against medium and long chain triglycerides. Gastroenterology, 1971, 60, 1-15.

26 - CONNERTY H.C., BRIGGS A.R., EATON E.H. - Clin. Chem. 1961, 7, 37.

27 - CONTE A., BONFILS S. - Physiologie de l'appareil digestif. La Pathologie Médicale, Flammarion Ed., Paris 1971, IV.

28 - COULBOIS J., MIGNON F., DUPUY R. - Physiologie duodénale. Rev. prat., 1973, 23, n° 21, p. 1857.

29 - DAWSON A.M., ISSELBACHER K.J. - The esterification of palmitate-1-$C^{14}$ by homogenates of intestinal mucosa.

30 - DELLIPIANI A.W. - Observations on the bacteriology of the G.I. tract in man, in Gordwood R.H. and SMITH A.N. Malabsorption. The Williams and Wickins Co, Ed. Baltimore, 1969.

31 - DELSAL J.L. - Nouveau procédé d'extraction des lipides du sérum par le méthylal. Application aux microdosages du cholestérol total des phosphoaminolipides et protéines. Bull. Soc. Biol., Paris, 1944, 26, 99.

32 - DESNUELLE P. - Pancreatic lipase (in : Handbook of physiology, section 6, alimentary canal, 5, 2629-2636. Williams and Wilkins Co, Washington, 1968).

33 - DIETSCHY J.M., SALLEE V.L., WILSON F.A. - Unstirred water layers and absorption acron the intestinal mucosa. Gastroenterology, 1971, 61, 932-934.

34 - DOLE, HAMLIN III - Particulate fat in blood and lymph. Physiol. Rev., 1962, 42, 674.

35 - DREHER K.D., SHULMAN J.H., HOFMANN A.F. - Surface chemistry of the monoglyceride bile salt system : its relation ship to the function of bile salts in fat absorption. J. Colloïd Interface Sci., 1967, 25, 71-83.

36 - DUNCOMBE W.G. - Biochem. J., 1963, 88, 7. In Deveaux Guy : Choix de techniques de biochimie clinique, 3è Ed., Paris, Gauthier-Villars 1974.

37 - ENTRESSANGLES B., PASERO L., SAVARY P., SARDA L., DESNUELLE P. - Influence de la nature des chaînes sur la vitesse de leur hydrolyse par la lipase pancréatique. Bull. Soc. Chim. Biol., Paris, 1961, 43, 581-591.

38 - ENTRESSANGLES B., SAVARY P., CONSTANTIN M.J., DESNUELLE P. Comportement in vitro et in vivo des chaînes courtes situées en position interne dans les triglycérides. Biochim. Biophys. Acta, 1964, 84, 140-148.

39 - ENTRESSANGLES B., SARI H., DESNUELLE P. - On the positional specificity of pancreatic lipase. Biochim. Biophys. Acta, 1966, 125, 597-600.

40 - ERB W., BOEHLE E. - Investigation of fecal lipids by thin-layer chromatography. Methodology and results from normal probands. (I.Med.Universitaetsklin, Frankfurt/M, Ger.) Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., 1968, 6, (5), 379-83 (Ger.).

41 - ERLANSON C., BORGSTRÖM B. - Carboxyl ester hydrolase and lipase of human pancreatic juice and intestinal content. Behaviour in gel filtration. Scand. J. Gastroenterol., 1970, 5, 395-400.

42 - FELDMAN E.B., BORGSTRÖM B. - The behaviour of glyceride fatty acid mixtures in bile salt solution : studies by gel filtration. Lipids, 1966, I, 430-438.

43 - FERNANDES J., VAN DEN KAMER J.H., WEISERS H.A. - Differences in absorption of the various fatty acids studied in children with steatorrhea. J. Clin. Invest., 1962, 41, 488-494.

44 - FLOCH M.H., GERSHENGOREN W., ELLIOTT S., SPIRO H.M. - Bile acid inhibition of the intestinal microflora : a function for simple bile acids ? Gastroenterology, 1971, 61, 228-233.

45 - FOLCH J., LEES M., SLOANE STANLEY G.H. - A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 1957, 226, 497-509.

46 - FORDTRAN J.S., INGELFINGER F.J. - Absorption of water, electrolytes and sugars from the human gut. In : Handbook of physiology, III. Washington, 1968, W. Wilkins Ed.

47 - FRAZER A.L. - Steatorrhea. Brit. Med. J., 1955, 2, 805-809.

48 - FREEMAN C.P., JACK E.L., SMITH L.M. - Intramolecular fatty acid distribution in the milk fat triglycerides of several species. J. Dairy Sci., 1965, 48, 853-858.

49 - FREEMAN C.P. - Properties of fatty acids in dispersions of emulsified lipid and bile salt and the significance of these properties in fat absorption in the pig and the sheep. Br. J. Nutr., 1969, 23, 249-263.

50 - FREEMAN C.P., HOAKES D.E., ANNISON E.F., HILL K.J. - The absorption of micellar fat in pigs. Proc. Nutr. Soc., 1967, 26 Vii.

51 - FREEMAN C.P., NOAKES D.E., ANNISON E.F., HILL K.J. - Quantitative aspects of intestinal fat absorption in young pigs. Br. J. Nutr., 1968, 22, 739-749.

52 - FREXINOS J. - Responsabilité des sels biliaires dans certains syndromes diarrhéiques. Nouv. Pres. Méd., Mars 1976, 5, n° 11, p. 707.

53 - GALLAGHER N.D., PLAYOUST M.R. - Absorption of saturated and unsaturated fatty acids by rat jejunum and ileum. Gastroenterology, 1969, 57, 9-18.

54 - GAULTIER R. - In coprologie fonctionnelle. GOIFFON R., GOIFFON B. Encyl. Med. Chir., 9010 A1, Laffont Ed., Paris, 1969.

55 - GELB. A.M., KESSLER J.I. - Effect of fatty acid structure on esterification by the small intestine in vitro. Am. J. Physiol., 1963, 204, 821-824.

56 - GO V.L.W., POLEY J.R., HOFMANN A.F., SUMMERSKILL W.H.J.- Disturbances in fat digestion induced by acidic jejunal pH due to gastric hypersecretion in man. Gastroenterology, 1970, 58, 638-646.

57 - GO V.L.W., SUMMERSKILL W.H.J. - Digestion, maldigestion and the gastro intestinal Hormones, Amer. J. Clin. Nutr., 1971, 24, 160-167.

58 - GOIFFON R. - Manuel de coprologie clinique, 5e Ed., Masson Ed., Paris 1949.

59 - GOIFFON R., NEPVEUX F. - Recherches sur le diagnostic coprologique des stéatorrhées. Arch. Mal. App. Dig., déc. 1950, 39, n° 12.

60 - GOIFFON R., AGUIAR O., GOMEZ M. - Quelques données de statistiques coprologiques. Arch. Mal. App. Dig., déc. 1950, 39, n° 12, 1295-1298.

61 - GOIFFON R., GOIFFON B. - Coprologie fonctionnelle. Encycl. Méd. Chir., 9010 A1°, Laffont Ed., Paris 1969.

62 - GORDON S.G., KERN F. Jr. - The absorption of bile salt and fatty acid by hamster small intestine. Biochim. Biophys. Acta, 1968, 152, 372-378.

63 - GORBACH S.L., NAHAS L., LERNER P.I., WEINSTEIN L. - Etudes sur la microflore intestinale. Gastroenterology, Déc. 1967, 53, n° 6, 845-855.

64 - GRACEY M., BURKE V., OSHIN A., BARKER J., GLASGOW E.F. - Bacteria, bile salts and intestinal monosaccharide malabsorption with abnormal small intestinal flora. Lancet, 1969, 2, 384-385.

65 - GREGOIRE P.E. - Biochimie pathologique. Press. Acad. Eur. Ed., Bruxelles 1972.

66 - GRENIER J.F., HATANO M., WEISS A.G. - Sièges électifs au niveau de l'intestin grêle de l'absorption de la trioléine $C_{14}$ et de l'acide oléique $C_{14}$. Cr. Soc. Biol., 1962, 156, 1695-1697.

67 - GRENIER J.F., JANSER J.C., SAVA G., CREVOISIER R. - Sièges électifs de l'absorption de la trioléine $C_{14}$ et de l'acide oléique $C_{14}$, au niveau de l'intestin. Rôles respectifs de la muqueuse intestinale, de la bile, du suc pancréatique. C.R. Soc. Biol., 1963, 157, 1502-1505.

68 - GREENBERGER N.J., RODGERS J.B., ISSELBACHER K.J. - Absorption of medium and long chain triglycerides : factors influencing their hydrolysis and transport. J. Clin. Invest., 1966, 45, 217-227.

69 - GUERRE J. - Les malabsorptions. Feuillets du praticien, 1972, 37, n° 11, p. 7.

70 - HAMILTON J.D., WEBB J.P.W., DAWSON A.M. - The absorption of tristearin and stearic acid and tripalmitin and palmitic acid. Studies on the rate-limiting steps in rats. Biochim. Biophys. Acta, 1969, 176, 27.

71 - HADORN B., ZOPPI G., SHMERLING D.H., PRADER A., MAC INTYRE I., ANDERSON C. - Quantitative assessment of exocrine pancreatic function in infants and children. J. Pediatr., 1968, 73, 39-50.

72 - HARTMANN L. - Techniques modernes de laboratoire et explorations fonctionnelles. Expansion Scientifique Française, 1971, 1, 254.

73 - HIGGINS J.A., CODE C.L., ORVIS A.L. - The influence of molibity on the rate of absorption of sodium and water from the small intestine of healthy persons. Gastroenterology, 1956, 31, 706.

74 - HIPPOCRATE - Oeuvres complètes, Livre I. Le pronostic 157-177. Union littéraire et artistique, Paris.

75 - HOFMANN A.F. - Clinical implications of physicochimical studies on bile salts. Gastroenterology, 1965, 48, 484-494.

76 - HOFMANN A.F. - A physicochemical approach to the intraluminal phase of fat absorption. Gastroenterology, 1966, 50, 56-64.

77 - HOFMANN A.F. - Molecular association in fat digestion. Advanc. Chem. Ser., 1968, 84, 53-66.

78 - HOFMANN A.F. - Functions of bile in the alimentary canal. In : Handbook of Physiology, section 6, alimentary canal, 1969, 5, 2506-2533.

79 - HOFMANN A.F. - Phase intraluminale de la digestion des lipides dans l'intestin. Arch. Franç. des Mal. de l'app. dig., 1972, 61, n° 9, 583.

80 - HOFMANN A.F., BORGSTRÖM B. - Physico chemical state of lipids in intestinal content during their digestion and absorption. Fed. Proc., 1962, 21, 43.

81 - HOFMANN A.F., BORGSTRÖM B. - The intraluminal phase of fat digestion in man : the lipid content of the micellar and oil phases of intestinal content obtained during fat digestion and absorption.

82 - HOFMANN A.F., SMALL D.A. - Detergents properties of bile salts : correlation with physiological function. Anna. Rev. Med., 1967, 18, 333-376.

83 - HOGBEN C.A.M. - Fat absorption a transport problem. Gastroenterology, 1966, 50, 51-55.

84 - HOLT P.R., BENNETT CLARK S. - Dietary triglyceride composition related to intestinal fat absorption. Ann. J. Clin. Nutr., 1969, 22, 279-283.

85 - HOROWITZ J., LORENSONN V.W., OLSEN W.A., ALBRECHT R., HONG R. - Small intestinal disease in T cell deficiency. J. Pediatr., U.S.A. 1974, 85, n° 4, 457-462.

86 - HYUN S.A., VAHOUNY G.V., TREADWELL C.R. - Portal absorption of fatty acids in lymph and portal vein-cannulated rats. Biochim. Biophys. Acta, 1967, 137, 296-305.

87 - ISSELBACHER K.J. - Metabolism and transport of lipid by intestinal mucosa. Fed. Proc., 1965, 24, 16-22.

88 - ISSELBACHER K.J. - Biochemical aspects of fat absorption. Gastroenterology, 1966, 50, 78-82.

89 - JENSEN R., ESPAGNE M., BUFFANGEIX D. - Analyse quantitative des différentes fractions lipidiques du sérum sanguin séparées par chromatographie en couche mince. Bull. Soc. Pharm., Bord. 1970, 109, 43-46.

90 - JENSEN R.G., SAMPUGNA J., PERREIRA R.L. - Pancreatic lipase. Lipolysis of synthetic triglycerides containing a trans fatty acid. Biochim. Biophys. Acta, 1964, 84, 481-483.

91 - JENSEN R.G., SAMPUGNA J., PERREIRA R.L. - Intermolecular specificity of pancreatic lipase and the structural analysis of milk triglycerides. S. Dairy Sci., 1964, 47, 727-732.

92 - JENSEN R.G., SAMPUGNA J. - Triglyceride structure of cow's milk fat. A rev. J. Dairy Sci., 1966, 49, 460-469.

93 - JENSEN R.G., SAMPUGNA J., CARPENTIER D.L., PITAS R.E. - Structural analysis of triglyceride classes obtained from cow's milk fat by fractional crystallization. J. Dairy Sci., 1967, 50, 231-234.

94 - JERSY GLASS G.B. - Principes de physiologie gastro-intestinale. Hermann Ed. Paris.

95 - JOHNSTON J.M. - Mechanism of fat absorption. In : Handbook of Physiology, section 6, Alimentary canal, 3, 1353-1375. Williams and Wilkins Co, Washington, 1968.

96 - JOHNSTON J.M., BORGSTRÖM B. - The intestinal absorption and metabolism of micellar solutions of lipids. Biochim. Biophys. Acta, 1964, 84, 412-413.

97 - JOHNSTON J.M., RAO G.A. - Triglyceride biosynthesis in the intestinal mucosa. Biochim; Biophys. Acta, 1965, 106, 1-9.

98 - KAUFFMANN H.P., MAKUS Z. - Fette, Seifen, Anstrichmittel, 1960, 62, 1014.

99 - KAYDEN H.J., GLASSMAN M.I., MEDICK M. - The metabolism of short and long chain fatty acids in orotic acid-fed rats. Biochim. Biophys. Acta, 1969, 176, 44-47.

100 - KAYDEN H.J., MEDICK M. - The absorption and metabolism of short and long chain fatty acids in puromycin-treated rats. Biochim. Biophys. Acta, 176, 37-43.

101 - KAYDEN H.J., SENIOR J.R., MATTSON F.H. - The monoglyceride pathway of fat absorption in man. J. Clin. Invest., 1967, 46, 1695-1703.

102 - KUMAGAWA M., SUTO K. - Ein neues verfahren zur quantitativen bestimmung des fettes und der unverseifbarren substangen in tieris-chen material nobst der kritik einiger gebraüchlichen methoden. Biochem. Z, 1908, 8, 212-247.

103 - LAMBERT R., ANDRE C. - Le syndrome de malabsorption. Encycl. Med. Chir. 9054 A1°, Laffont Ed., Paris 1969.

104 - LAMBLING A., BERNIER J.J. - Analyse critique du syndrome de malabsorption. Rev. Prat., 1962, 12, 2, 169.

105 - LAMBLING A., BERNIER J.J., BOUVRY M. - Definition et classification des diarrhées. Rev. Prat., 1962, 12, 2, 115.

106 - LEE J.S. - Flows and pressures in lymphatic and blood vessels of intestine in water absorption. Amer. J. Physiol., 1961, 200, 979.

107 - LEES R.S. - Immunological evidence for the presence of B protein (apoprotein of B-lipoprotein) in normal and abetalipoproteinemic plasma. J. Lipid. Re., 1967, 8, 396-405.

108 - LE QUINTREC Y., BERNIER J.J., LAMBLING A. - Sécrétion et absorption de l'eau et des électrolytes par l'intestin. Path. Biol., 1966, 14, 108-131.

109 - LEWIS B., PANVELIWALLA D., TABAQCHALI S., WOOTON I.D.P. - Serum bile acids in the stagnant-Loop syndrome. Lancet, 1969, 1, 219-220.

110 - LUDDY F.E., BARFORD R.A., HERB S.F., MAGIDMAN P., RIEMEN SCHNEIDER R.W. - Pancreatic lipase hydrolysis of triglycerides by a semi-micro technique. J. Am. Oil Chem. Soc., 1964, 41, 693-696.

111 - MARUBBIO A.T., MORRIS J., HOLT P.R. - Modification of oleic acid uptake by 2-mono-olein by rat jejunum in vitro (abstract). Fed. Proc., 1972, 31, 259.

112 - MATTSON F.H., VOLPENHEIM R.A. - Rearrangement of glyceride fatty acids during digestion and absorption. J. Biol. Chem., 1962, 237, 53-55.

113 - MATTSON F.H., VOLPENHEIM R.A. - Synthesis and properties of glycerides. J. Lipid Res., 1962, 3, 281-296.

114 - MATTSON F.H., VOLPENHEIM R.A. - The digestion and disorption of triglycerides. J. Biol. Chem., 1964, 239, 2772-2777.

115 - MATTSON F.H., VOLPENHEIM R.A. - Carboxylic ester hydrolases of rat pancreatic juice. J. Lipid Res., 1966 7, 536-543.

116 - MAYLIE M.F., CHARLES M., GACHE C., DESNUELLE P. - Isolation and partial identification of a pancreatic colipase. Biochim. Biophys. Acta, 1971, 229, 286-289.

117 - MEKHJIAN H.S., PHILLIPS S.F., HOFFMANN A.F. - Colonic secretion of water and electrolytes studies in man J. Clin. Invest., 1971, 50, 1569-1577.

118 - MERLAND R. - Communication personnelle.

119 - MERLAND R., COUTHURES P. - Communication personnelle.

120 - METAIS P., WARTER J. - Le transit lipidique. Ann. Biol. Clin., 1959, 17, 419-428.

121 - MISHKIN S., KESSLER J.I. - The uptake and release of bile salt and fatty acid by hamster jejunum. Biochim. Biophys. Acta, 1970, 202, 222-224.

122 - MISHKIN J., YALOVSKY M., KESSLER J.L. - Studies on the interaction of the micellar aggregate with the surface of the hamster small intestine. Gastroenterology, 1971, 60, 787.

123 - MODIGLIANI R. - Diagnostic biologique des malabsorptions intestinales. Conc. Med., 1967, Supp. 50, 3, 43.

124 - MODIGLIANI R. - L'absorption intestinale. Conc. Med., 1967, Supp. 50, 3, 16.

125 - MODIGLIANI R. - Etude de l'absorption intestinale par perfusion intra-luminale. Arch. Fr. Mal. App. Dig., 1972, 61, 9, 579.

126 - MORELLE J. - Chimie et biochimie des lipides simples.

127 - MORGAN R.G.H., BARROWMAN J., FILIPEK-WENDER H., BORGSTRÖM B. - The lipolytic enzymes of rat pancreatic juice. Biochim. Biophys. Acta, 1968, 167, 355-366.

128 - MORGAN R.G.H., BARROWMAN J., BORGSTRÖM B. - The effect of sodium taurodesoxycholate and pH on the gel filtration behaviour of rat pancreatic protein and lipases. Biochim. Biophys. Acta, 1969, 175, 65-75.

129 - NOTHNAGEL, SCHMIDT, STRASS BURGER - In coprologie fonctionnelle. Encycl. Med. Chir., 9110 A1, Laffont Ed., Paris, 1969.

130 - PALAY, KARLIN - In MODDIGLIANI R.

131 - PAQUOT C., MERCIER J., MATHIEU A., LEFORT D., PERRON R. - Les méthodes analytiques de lipides simples. Les cahiers techniques du centre national de coordination des études et recherches sur la nutrition et l'alimentation, VIII, C.N.R.S. 1962.

132 - PERCY-ROBB I.W., JALAN K.M., MAC MANUS J.P.A. - Effect of ileal resection on bile salt metabolism on patients with ileostomy following proctocolectomy. Clin. Sci., 1971, 41, 371-382.

133 - PLAYOUST M.R., ISSELBACHER K.J. - Studies on the intestinal absorption and intramucucosal lipolysis of a medium chain triglyceride. J. Clin. Invest., 1964, 43, 878-885.

134 - RAUTUREAU M., RAUTUREAU J. - Les acides et les sels biliaires. Arch. Fr. Mal. App. Dig., 1971, 60, 445.

135 - RENNER R., HILL F.W. - Factors affecting the absorbability of saturated fatty acids in the chick. J. Nutr., 1961, 74, 254-258.

136 - REY J. - Physiopathology of fat digestion and absorption. Rev. Eur. Etud. Clin. Biol., 1970, 15, 255-257.

137 - REY J. - Les déficits héréditaires en lipoprotéines. In : Actualités métaboliques en pédiatrie. Fontaine G. Ed., 4e série, 167-185, Doin, Paris, 1971.

138 - REY J., FREZAL J., LAMY M. - Influence of an oil containing equal amounts of six fatty acids on the composition of fecal lipids in cystic fibrosis. Mod. Probl. Pädiat., 1967, 10, 269-272.

139 - RICOUR C., REY J. - Study of the oil and micellar phases during fat digestion in the normal child. Rev. Eur. Etud. Clin. Biol., 1970, 15, 287-293.

140 - RICOUR C., REY J. - Hydrolysis rates of long chain triglyceride "in vivo" study. Rev. Eur. Clin. Biol., 1970, 15, 786-788.

141 - RICOUR C., REY J. - Study on the hydrolysis and micellar solubilization of fats during intestinal perfusion. I résults in the normal child. Rev. Eur. Etud. Clin. Biol., 1972, 17, 172-178.

142 - ROSENBERG I.H., HARDISON W.G., BULL D.M. - Abdormal bile salt pattern and intestinal bacterial overgrowth associated with malabsorption. New. Engl. J. Med. 1967, 276, 1391-1397.

143 - ROUSSELET - Dosage des graisses fécales. In Loiseleur, Techniques de Laboratoire II, Masson Ed., 273, 1963.

144 - RUBIN C.E. - Election microscopic studies of triglycerides absorption in man. Gastroenterology, 1966, 50, 65-77.

145 - ROBINS S.J., SMALL D.M., TRIER J.S., DONALDSON R.M. Jr. - Localization of fatty acid réestérification in the brush border region of intestinal absorptive cells. Biochim. Biophys. Acta, 1971, 233, 550-561.

146 - SALLEE V.L., DITSCHY J.M., RECTOR F.C. - Monomer diffusion as the mechanism of intestinal fatty acid uptake from bile acid micelles (abstract). Fed. Proc., 1972, 31, 259.

147 - SAUTIER C. - Exploration fonctionnelle intestinale. In Ollivier H.R., Méthodes d'exploration fonctionnelle, 4, Paris, Maloink 1961.

148 - SENIOR J.R. - Intestinal absorption of fats. J. Lipid Res., 1964, 5, 495-521.

149 - SENIOR J.R., ISSELBACHER K.J. - Demonstration of a intestinal monoglyceride lipase : an enzyme with a possible role in the intracellular completion of fat digestion. J. Clin. Invest., 1963, 42, 187-195.

150 - SHIELDS R., CODE C.F. - Effects of increased portal pressure on absorption of water and sodium from the ileum of dogs. Amer. J. Physiol., 1961, 200, 775.

151 - SCHMIDT J.M. - Contribution à l'étude analytique des lipides par la réaction sulfo-phospho-vanillique. Applications pharmacologiques et biologiques. Lyon 1964, Thèse d'Etat n° 19.

152 - SIMMONDS W.J., HOFMANN A.F., THEODOR E. - Absorption of cholesterol from a micellar solution : intestinal perfusion studies in man. J. Clin. Invest. 1967, 46, 874-890.

153 - SIMMONDS W.J., REDGRAVE T.G., WILLIX R.L.S. - Absorption of oleic and palmitic acids from emulsions and micellar solutions. J. Clin. Invest., 1968, 47, 1015-1025.

154 - SMALL D.M. - A classification of biologic lipids based upon their interaction in aqueous systems. J. Am. oil Chem. Soc. 1968, 45, 108-119.

155 - SMITH L.H., HOFFMANN A.F. : Alquired hyperoxaliuria, nephrolithiasis and intestinal disease. A new digestive disorder ? Gastroenterology, 1974, 66, 1257-1280.

156 - STRAUSS E.W. - Election microscopic study of intestinal fat absorption in vitro from mixed micelles containing linoléic acid, monoclein and bile salt. J. Lipid Res., 1966, 7, 307-323.

157 - TABAQCHALI S., HATZIOANNOU J., BOOTH C.C. - Bile salt deconjugaison and steatorrhea in patients with the stagnant-loop syndrome. Lancet, 1968, 2, 12-16.

158 - THORNTON A.G., VAHOUNY G.V., TREADWELL C.R. - Absorption of lipids from mixed micellar bile salt solutions. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1968, 127, 629-632.

159 - TOMARELLI R.M., MEYER B.J., WEABER J.R., BERNHART F.W. - Effect of positional distribution on the absorption of the fatty acids of human milk and infant formulas. J. Nutr., 1968, 95, 583-590.

160 - TREMOLIERES J., BONFILS S., CARRE L., SAUTIER C. - Une méthode d'étude de la digestibilité chez l'homme : le fécalogramme. Nutritio et dieta. 1961, 3, 281-289.

161 - TREMOLIERES J., SAUTIER C., LAPORTE J.C., FLAMENT C. - Une méthode d'étude des fonctions digestives dans les diarrhées chroniques : le fécalogramme. Cah. Nutrit. Diétét. 1966, 1, 1-13.

162 - TRIER J.J. - Normology of the epithelium of the small intestine. In handbook of physiologie, III Washington 1968 W Wilkins edit. Section 6 : Alimentary Canal, 3, 211-414 / 6-3.

163 -VAN DEN KAMER J.H., TEN BOKKEL HUININK H., WEYERS H.A. - Rapid method for determination of fat in feces. J. Biol. Chem., 1959, 177, 347-355.

164 - VLANCEVIC Z.R., BELL C.C.J., BUHAC I., FARRAR J.T., SWELL L. - Diminished bile acide pool in patients with cholesterol gallstones. Gastroenterology, 1970, 59, 165-173.

165 - WELB J.P.W., HAMILTON J.D., DAWSON A.M. - A physico-chemical study of fat absorption in rats. Limitation of methods in vitro. Biochim. Biophys. Acta, 1969, 187, 42-52.

166 - WILSON T.H. - Intestinal absorption. W.B. SAUNDERS and Co, Philadelphia, London, 1962, 263.

167 - WILSON F.A., SALLEE V.L., DIETSCHY J.M. - Unstirred water layers in intestine : rate determinant of fatty acid absorption from micellar solutions. Science, 1971, 174, 1031.

168 - WISEMAN C. - Absorption from the intestine. Academic Press London et New-York, 1964.

169 - WOLF J.P. - Manuel d'analyse des corps gras, Paris, Azoulay Ed. 1968, 49-79.

170 - YOUNG R.J., GARRETT R.L. - Effect of oleic and linoleic acids on the absorption of saturated fatty acids in the drick. J. Nutrit., 1963, 81, 321-329.

171 - ZILVERSMIT D.S., DAVIS A.L. - Microdertermination of plasma phospholipids. J. Lab. Clin. Med., 1950, 35, 155.

° ° °

TABLE DES MATIERES


| | Pages |
|---|---|
| INTRODUCTION | 1 |
| PREMIERE PARTIE - Les lipides | 7 |
| Chapitre I : Biochimie | 9 |
| I - Les sécrétions digestives : leur rôle dans la digestion et l'absorption des lipides | 10 |
| II - Digestion des lipides | 15 |
| III - Absorption des lipides | 24 |
| IV - Devenir des lipides absorbés : incidence sur leur absorption intestinale | 30 |
| V - Conclusion | 36 |
| Chapitre II : Pathologie | 37 |
| I - Formes étiologiques du syndrome de malassimilation | 38 |
| II - Conséquences physiopathologiques du syndrome de malassimilation | 43 |
| III - Méthodes classiques d'analyse des lipides fécaux | 57 |
| IV - Conclusion | 69 |
| DEUXIEME PARTIE - Travaux personnels | 71 |
| Chapitre I : Méthodes d'extraction ; dosage de l'eau dans les matières fécales | 75 |
| I - Extraction à chaud de l'eau et des lipides ; dosage de l'eau par volumétrie | 76 |

II - Extraction à froid de l'eau et des lipides ; dosage de l'eau par ampérométrie. 92
III - Conclusion..... 105

*Chapitre II* : Méthodes chromatographiques de dosage des lipides fécaux..... 107

I - Dosage des différentes fractions lipidiques par chromatographie en couche mince. 107
II - Dosage des différents fractions d'acides gras libres par chromatographie en phase gazeuse..... 126
III - Conclusion..... 131

*Chapitre III* : Eléments de discussion..... 133

I - Dossiers cliniques..... 134
II - Résultats analytiques - Discussion..... 145
III - Conclusion..... 157

*CONCLUSIONS GENERALES*..... 159
*REFERENCES*..... 171

° ° °